

1
R454
SI
Tome 67

Fascicule 2 (Nos 8-25)

Août 1960

REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE

ANNALES

DE LA

SOCIÉTÉ SUISSE DE ZOOLOGIE

ET DU

MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

MAURICE BEDOT

fondateur

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

EMILE DOTTRENS

Directeur du Muséum d'Histoire naturelle de Genève

AVEC LA COLLABORATION DE

HERMANN GISIN

Conservateur des arthropodes

et

EUGÈNE BINDER

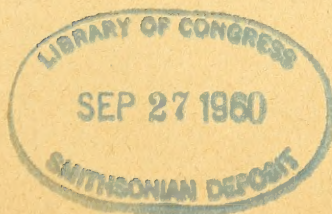
Conservateur des invertébrés

*Ce fascicule renferme les travaux présentés à l'Assemblée
générale de la Société suisse de Zoologie tenue à Bâle
les 5 et 6 mars 1960.*

GENÈVE

IMPRIMERIE ALBERT KUNDIG

1960



REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE

Tome 67. En cours de publication.

	Pages
N° 1. Georges DUBOIS. Contribution à l'étude des Trématodes de Chiroptères. Revision du sous-genre <i>Prosthodendrium</i> Dollfus 1931 et des genres <i>Lecithodendrium</i> Looss 1896 et <i>Pycnopus</i> Looss 1899. Avec 9 figures dans le texte	1
N° 2. Hermann GISIN. Collemboles cavernicoles de la Suisse, du Jura français, de la Haute-Savoie et de la Bourgogne. Avec 1 tableau et 4 figures dans le texte	81
N° 3. Hans-Rudolf HAEFELFINGER. Beobachtungen an <i>Polycera quadrilineata</i> (Müller) (<i>Moll., Nudibr.</i>). Mit 11 Textfiguren	101
N° 4. V. KIORTSIS et M. KIORTSIS. Fractionnement par électrophorèse sur papier des protéines sériques de trois espèces du genre <i>Triturus</i> . Avec 2 figures dans le texte	119
N° 5. J.-L. PERRET. Une nouvelle et remarquable espèce d' <i>Atractaspis</i> (<i>Viperidae</i>) et quelques autres Serpents d'Afrique. Avec 4 figures dans le texte	129
N° 6. G. PILLERI. Das Gehirn von <i>Mustela vison</i> und <i>Mephitis mephitis</i> (<i>Carnivora, Mustelidae</i>). Mit 12 Textabbildungen	141
N° 7. Adolphe PORTMANN et Esther SANDMEIER. <i>Dondice banyulensis</i> , sp. nov. un Eolidien nouveau de la Méditerranée. Avec 6 figures dans le texte	159
N° 8. G. ANDERS. Papierchromatographischer Nachweis von höheren, nicht-flüchtigen Fettsäuren bei <i>Drosophila melanogaster</i> . Mit 5 Textabbildungen	171
N° 9. F. BALTZER und P. S. CHEN. Über das zytologische Verhalten und die Synthese der Nukleinsäuren bei den Seeigelbastarden <i>Paracentrotus</i> ♀ × <i>Arbacia</i> ♂ und <i>Paracentrotus</i> ♀ × <i>Sphaerechinus</i> ♂	183
N° 10. Renate BECKER. Bau und Funktion des Genitalsystems von <i>Bosellia mimetica</i> Trinchese	194
N° 11. E. ERNST. Fremde Termitenkolonien in <i>Cubitermes</i> -Nestern. Mit 1 Textabbildung	201
N° 12. R. GEIGY und P. SUTER. Zur Copulation der Flöhe	206
N° 13. H.-A. GUÉNIN et A. GAUTIER. Observations sur la structure submicroscopique des chromosomes du <i>Blaps mucronata</i> Latr. (<i>Col. Tenebr.</i>). Note préliminaire. Avec 1 figure dans le texte et 2 planches	210
N° 14. E. HADORN und I. WALKER. <i>Drosophila</i> und <i>Pseudeucoila</i> . I. Selektionsversuche zur Steigerung der Abwehrreaktion des Wirtes gegen den Parasiten. Mit 5 Textabbildungen	216
N° 15. Hans-Rudolf HAEFELFINGER. Neue und wenig bekannte Opisthobranchier der Gattungen <i>Trapania</i> und <i>Caloria</i> aus der Bucht von Villefranche-sur-Mer (A.-M.). Mit 8 Textabbildungen	226
N° 16. Marguerite NARBEL-HOFSTETTER. La surmaturation des œufs de <i>Luffia</i> (<i>Lepid. Psych.</i>). Avec 5 figures et 3 photographies	238
N° 17. R. MATTHEY. Contribution à la cytologie comparée des Caméléons	244
N° 18. Thea MEYER-TAPLICK und P. S. CHEN. Zur Histologie des Mitteldarms normaler und letaler (<i>lme</i>) Larven von <i>Drosophila melanogaster</i>	245

(Voir suite page 3 de la couverture)

Prix de l'abonnement :

Suisse Fr. 75.—

Union postale Fr. 80.—

(en francs suisses)

Les demandes d'abonnement doivent être adressées à la rédaction de la *Revue Suisse de Zoologie*, Muséum d'Histoire naturelle, Genève

COMMUNICATIONS FAITES A L'ASSEMBLÉE GÉNÉRALE DE LA
SOCIÉTÉ SUISSE DE ZOOLOGIE, TENUE A BÂLE LES 5 ET 6 MARS 1960

MITGETEILS AN DER GENERALVERSAMMLUNG DER SCHWEIZERISCHEN
ZOOLOGISCHEN GESELLSCHAFT IN BASEL DEN 5. UND 6. MÄRZ 1960

Communications qui seront publiées dans un autre fascicule ou dans une autre revue :

Mitteilungen, die in einem anderen Heft oder einer anderen Zeitschrift veröffentlicht werden :

P. Bopp, Basel. — Neuere Ergebnisse des wissenschaftlichen Vogelschutzes.

H. P. Hahn und **F. E. Lehmann**, Bern. — Verschiedenartige synergistische Effekte zweier SH-substituierter morphostatistischer Stoffe.

R. Schenkel und **E. M. Lang**, Basel. — Beobachtungen am Basler Gorillakind.

N^o 8. **G. Anders**, Zürich. — Papierchromatographischer Nachweis von höheren, nichtflüchtigen Fettsäuren bei *Drosophila melanogaster*. (Mit 5 Textabbildungen.)

Aus dem zoologisch-vergleichend-anatomischen Institut der Universität Zürich ¹.

EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Die Ergebnisse zahlreicher physiologisch-genetischer Arbeiten zeigen, dass sich die Wirkung der Gene häufig in recht komplexen pleiotropen Wirkungsmustern manifestiert (HADORN, 1945). Die ersten Untersuchungen dieser Art wurden meist an morphologischen oder entwicklungsphysiologischen Wirkungsmustern durchgeführt, doch zeigt sich immer mehr, dass der biochemischen Pleiotropie (HADORN, 1954) eine hervorragende Bedeutung zukommt.

Von diesem Gesichtspunkt aus gewinnen Stoffwechselvorgänge und -Anomalien ein besonderes genetisches Interesse. Gut bekannte Objekte der genetischen Untersuchungen wie die Mutanten von *Drosophila melanogaster* wurden auch in diesem Sinne geprüft. Das Hauptinteresse konzentrierte sich vor allem auf die Untersuchung der Augenpigmente und der Eiweisskörper, sowie ihrer Stoffwechselprodukte (HADORN, 1956). Nun ist aber erst aus einer möglichst vielseitigen Erfassung der genbedingten Stoffwechselvorgänge eine Einsicht in die primäre Aktivität der Gene zu erhoffen (HADORN, 1954). Eine grosse Stoffgruppe, diejenige der Lipide, hat bisher bei physiologisch-genetischen Untersuchungen wenig Beachtung gefunden. Das ist besonders bei *Drosophila melanogaster* der Fall. Dabei sollte gerade hier der Lipidstoffwechsel in mehrfacher Hinsicht die Möglichkeit zu aufschlussreichen Untersuchungen liefern.

¹ Herrn Prof. Dr. E. Hadorn danke ich bestens für die grosszügige Förderung dieser Arbeit. Den Herren Prof. Dr. H. P. Kaufmann, P.-D. Dr. A. Seher, Dr. Kirschneck, Münster (Westf.), sowie den Herren Prof. Dr. H. K. Mitchell, Pasadena u. M. Visconti, Zürich danke ich für ihre wertvollen Ratschläge.

Aus den Arbeiten von BEGG und ROBERTSON (1950) geht hervor, dass sich *Drosophila melanogaster* unabhängig von jeglicher Zufuhr verseifbarer Fettstoffe normal entwickeln kann. Die Physiopathologie des Fettstoffwechsels wird sich also bei *Drosophila* am ehesten im Bereich des transitorischen oder endogenen Fettes (KAUFMANN, 1953) abspielen. Damit sind jene Fettsubstanzen gemeint, die innerhalb des Organismus aus anderen Stoffklassen gebildet werden. Somit sind zahlreiche Möglichkeiten für den direkten Eingriff einzelner Gene in den Fettstoffwechsel gegeben. Deshalb ist durchaus zu erwarten, dass sich unter den Mutanten von *Drosophila melanogaster*, vor allem unter den Letalfaktoren, die vielfältige Erscheinungen von biochemischer Pleiotropie (HADORN, 1955) aufweisen, eine erhebliche Anzahl finden dürfte, welche Defekte des Fettstoffwechsels aufweisen.

Die bisherigen Fettuntersuchungsmethoden waren den Bedürfnissen der physiologischen Genetik nicht in jeder Hinsicht angepasst. Eine der Hauptschwierigkeiten, die sich einer gründlichen Untersuchung mancher Mutanten entgegenstellten, war die geringe Menge des zur Verfügung stehenden Materials.

Eine der empfindlichsten ultramikroanalytischen Methoden ist zweifellos die Papierchromatographie. In den letzten Jahren haben besonders KAUFMANN und seine Schule (Übersicht bei KAUFMANN und MOHR, 1958) sodann SCHLENK und Mitarbeiter (Übersicht: SCHLENK und Mitarbeiter, 1957) durch ihre Untersuchungen die Papierchromatographie der Fettstoffe soweit ausgebaut, dass sie zu einem zuverlässigen und vielseitig brauchbaren Instrument der Fettanalyse geworden ist. Es war deshalb naheliegend, sie zu unseren Zwecken zu verwenden.

Wir beschränkten unsere Untersuchungen auf die verseifbaren Lipide. Auch hier musste noch eine Auswahl getroffen werden. Vorerst sind die papierchromatographischen Nachweismethoden der höheren, nicht flüchtigen geradkettigen Fettsäuren besonders weit entwickelt. So konzentrierten wir unsere Untersuchung auf diesen Bereich.

Das Ziel der vorliegenden Untersuchungen war, vorerst das Inventar der höheren, nichtflüchtigen Fettsäuren von *Drosophila melanogaster* aufzunehmen, um auf diese Weise die sachliche und methodische Grundlage für nachfolgende physiologisch-genetische Untersuchungen zu schaffen.

METHODEN

a) *Extraktion der Fette.*

Die Extraktion der Fette wurde mit Aceton (LOVERN, 1957) auf folgende Art vorgenommen:

Die abgezählten und gewogenen Objekte wurden mit der doppelten Gewichtsmenge Na_2SO_4 in Glühröhrchen aus Pyrexglas zu einer Paste verrieben. Die Paste wurde mit mindestens dem doppelten Volumen Aceton absol. versetzt und in N_2 -Atmosphäre bei Zimmertemperatur mindestens 48 Stunden lang stehen gelassen. Anschliessend wurde das überstehende Aceton abpipettiert und der Rückstand viermal mit je dem doppelten Volumen Aceton absol. ausgewaschen. Der gesamte Acetonextrakt wurde bei 70 mm Hg eingedampft. Bei grösseren Proben wurde das Fett zusätzlich im CO_2 -Strom getrocknet.

b) *Verseifung.*

Die Fettsubstanz wurde mit 0,5 n alkoholischer KOH Lösung im Überschuss versetzt und bei Zimmertemperatur in einer N_2 -Atmosphäre lichtgeschützt stehen gelassen. Nach mindestens 24—36 Stunden wurde die alkoholische Seifenlösung im Vakuum bei 60—70 mm Hg und Zimmertemperatur auf die Hälfte eingedampft; danach wurde mit destilliertem Wasser aufs ursprüngliche Volumen ergänzt.

c) *Entfernung der unverseifbaren Bestandteile durch Ausschütteln mit Petroläther.*d) *Darstellung der Fettsäuren.*

Die Seifenlauge wurde mit 2 n HCL im Überschuss angesäuert. Die freien Fettsäuren wurden mit absolutem peroxydfreiem Äther ausgeschüttelt. Die Gesamtmenge des Äthers wurde nun mit dest. Wasser wiederholt ausgewaschen, bis das Waschwasser das p^{H} des dest. Wassers aufwies. Der ätherische Extrakt wurde anschliessend mit Na_2SO_4 getrocknet, zentrifugiert, abpipettiert und der Äther bei 70 mm Hg abgedampft.

Wurden von den Fettsäuren Vorratslösungen mit bestimmtem Titer angesetzt, so wurden die Substanzen vorerst bis zur Ge-

wichtskonstanz im CO_2 -Strom getrocknet und darauf meistens in Benzol oder Toluol gelöst. Je nach Bedarf wurden für Chromatogramme 0,2—0,5% Lösungen verwendet. Die Auftragsmenge betrug 50—80 γ im 1-dimensionalen und 100—120 γ im 2-dimensionalen Verfahren.

Waren die Fettsäuremengen nur gering (bis 500 γ), und waren sie nur zur Verwendung für ein einzelnes Chromatogramm vorgesehen, wurden sie in der Menge Benzol gelöst, die zum Auftragen zweckentsprechend war (20—30 mm).

e) *Untersuchung der Fettsäuren.*

Chromatographische Methoden.

In allen Fällen wurde Whatman No 1 Papier verwendet und aufsteigend chromatographiert.

Vorbehandlung des Papiers und der Steiglösungen:

Teilimprägnierung des Papiers mit verdünntem Undekan nach KAUFMANN (1958) (Undekan: Eisessig: Benzol 6: 0,5: 7; Undekan standardisiert für Papierchromatographie, Firma J. HALTERMANN, Hamburg). Das Auftropfen grösserer Fettsäuremengen aufs Papier, wie es bei Orientierungsuntersuchungen häufig unumgänglich ist, gestattet keine Vorimprägnierung des Papiers. Wir haben deshalb die Fettsäuren auf unbehandeltes Papier aufgetragen und erst nach erfolgtem Auftragen die Teilimprägnierung mit Undekan in Barriereform durchgeführt, derart, dass etwa ein 1 cm breiter Streifen oberhalb der Fettsäureflecken frei blieb. Während des Verdunstens des Benzols (ca 10') fand die Undekanbarriere durch Diffusion im Papier jeweils gerade den Anschluss an die Fettsäuren.

Als Steigflüssigkeit wurde bei dieser Vorbehandlung des Papiers meist Aceton-Eisessig-Wasser 8: 2: 1 verwendet.

Vollimprägnierung des Papiers mit Silikon DC fluid 200 (10 est bei 25° C, DOW CORNING). Verwendet wurde eine 5% Lösung von Silikon in Äther (SCHLENK u. a., 1957). Die imprägnierten Papiere wurden vor Gebrauch durch Leerentwicklung in 80% Essigsäure gewaschen. Steigflüssigkeit: Ameisensäure 42%, Essigsäure 40,5%, Wasser 17,5%. Verwendung bei — 6° C zur Trennung von gesättigten und ungesättigten Säuren; bei Zimmertemperatur mit 80% Essigsäure für Übersichtschromatogramme. Bei der zweidimensionalen Chromatographie mit dieser Imprägnierung wurde das Papier nach dem ersten Lauf 30 Minuten bei 80° C getrocknet. Nach der

zweiten Entwicklung in 80% Essigsäure wurde das Papier zur Entfernung der Säure 40 Minuten bei 110° C getrocknet und anschliessend reichlich belüftet.

Der Nachweis der Fettsäuren erfolgte meistens nach KAUFMANN (1954) über die Kupfersalze der Fettsäuren und nachfolgender Umsetzung mit Kaliumhexacyanoferrat (II). Die auf dem Papier entstehende braunrote Kupfereisenverbindung steht in stöchiometrischer Mengenbeziehung zu den verwendeten Fettsäuren (SEHER, 1956). Mit dieser Methode lassen sich höhere Fettsäuren von C_{14} an aufwärts quantitativ nachweisen.

Zur selektiven Lokalisation der ungesättigten Fettsäuren wurde die Färbung mit Joddampf bei 50°-60° C verwendet (SCHLENK u. a. 1957). Eigene Tests ergaben, dass im Bereich der in Frage kommenden Fettsäuren und bei den von uns verwendeten Mengen, nur die ungesättigten positiv reagierten.

3. Die quantitative Erfassung der von den Fettsäuren gebildeten Flecken erfolgte mit einem Photovolt Densitometer, Modell 425 M mit Photozelle B und Durchlichtkasten 52 C. Die Messungen der mit Kupferhexacyanoferrat II gefärbten Chromatogramme erfolgte mit einem Sekundärfilter mit maximaler Durchlässigkeit bei 490 m μ , die Jodflecken wurden bei 440 m μ gemessen.

f) Zuchtmethoden.

Zu allen Versuchen wurde folgendes Standardfutter verwendet: Wasser 940 ccm, Maisgries 125 gr, Rohrzucker 65 gr, Trockenhefe 28 gr, Agar-Agar 7,5 gr. Zur Konservierung wurde 1⁰/₁₀₀ Nipagin zugesetzt. Die erkalteten Futterböden wurden mit reichlich Frischhefe bestrichen. Die Zuchttemperatur betrug 25° \pm 0,5° C.

MATERIAL

Das Inventar der Fettsäuren wurde auf Grund zahlreicher Extrakte aufgenommen. Im folgenden sollen die Befunde an Hand einzelner Beispiele erläutert werden.

a) Larven des dritten Stadiums kurz vor der Verpuppung, Wildstamm *Sevelen*.

Aus 96 weiblichen Larven mit einem Frischgewicht von 228,4 mg wurden 11,67 mg Fettsäuren gewonnen. 57 männliche Larven

gleichen Alters und aus der gleichen Zucht mit einem Frischgewicht von 99,54 mg lieferten 6,17 mg Fettsäuren.

b) Imagines.

Verwendet wurde ein Extrakt aus 40 Weibchen des Wildstammes *Sevelen* im Alter von $3\frac{1}{2} \pm 3\frac{1}{2}$ Stunden nach dem Schlüpfen. Das Frischgewicht der 40 Weibchen betrug 55,76 mg. Es wurden daraus 3,75 mg Fettsäuren gewonnen.

ERGEBNISSE

Im eindimensionalen Chromatogramm (Papier teilimprägniert mit Undekan; Entwicklung mit Aceton-Eisessig-Wasser nach KAUFMANN, 1958) zeigen sich bei einer Auftragsmenge von 80 γ Fettsäure, zwei nah aneinander liegende kräftige Flecken (Abb. 1). Im Dichtediagramm sind diese Flecken als klar abgesetzte Kurven Gipfel erkennbar (Abb. 2). Unmittelbar anschliessend erhöht sich hier die Kurve noch ein drittes Mal. In stark überladenen Chromatogrammen mit ca 500 γ Auftragsmenge wird hier denn auch ein dritter Farbfleck sichtbar.

Da die natürlichen Fettsäuregemische beim Auftragen auf dem Papier im Gegensatz zu den daneben aufgetragenen gesättigten Testsäuren nach Verdunsten des Lösungsmittels einen deutlich ölig-durchsichtigen Fleck bildeten, war zu vermuten, dass im natürlichen Gemisch ungesättigte, flüssige Säuren vorhanden seien. Dies musste nun geprüft werden. Ungesättigte Fettsäuren nehmen im Gegensatz zu den gesättigten im Joddampf eine gelbe bis braune Färbung an (SCHLENK u. a., 1957; M. WHITEHOUSE u. a., 1959). Ein nach dieser Methode mit Jod angefärbtes Chromatogramm von *Drosophila*-Fettsäuren lässt drei klare Flecken erkennen. Das Dichtediagramm (Abb. 3) lässt seinerseits drei deut-



ABB. 1.

Schematische Darstellung eines Fettsäurechromatogramms von *Drosophila melanogaster*. Aufgetragen: 80 γ Säuregemisch. Entwicklung nach KAUFMANN S. 174. Die Flecken 1 und 2 wurden vom Originalchromatogramm abgepaust. Auf. $\frac{1}{3}$ verkleinert.

liche Gipfel erkennen. Damit sind zumindest drei ungesättigte Fettsäuren nachgewiesen.

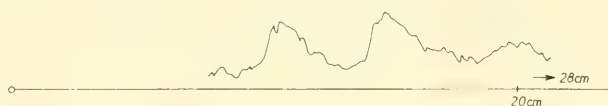


ABB. 2.

Dichtediagramm der Fettsäuren (50 γ) männlicher Larven von *Drosophila melanogaster*. Von links nach rechts entsprechen die zwei ersten Kurvengipfel den Flecken 1 und 2 von Abb. 1. Bei 20 cm dritter Gipfel. Entwicklung nach KAUFMANN S. 174. Steighöhe, 28 cm.



ABB. 3.

Dichtediagramm eines nach SCHLENK S. 175 mit Jod behandelten Chromatogramms. Ca 65 γ Fettsäuren von weiblichen Larven von *Drosophila melanogaster*. Die Kurvengipfel entsprechen drei Flecken auf dem Chromatogramm. Steighöhe 15,5 cm.

Die nächste Frage, die sich stellte war ob die einzelnen Flecken des Chromatogramms durch Reinsubstanzen oder durch Gemische von gleichem Laufwert bedingt seien. Bekanntlich gibt es einzelne, ungesättigte Fettsäuren, deren Laufwerte weitgehend mit denen bestimmter gesättigter Fettsäuren übereinstimmen. So bildet Oelsäure, mit Palmitinsäure, Linolsäure mit Myristinsäure, Linolensäure mit Laurinsäure sogenannte „kritische Paare“ (KAUFMANN, 1958). Sind solche „kritische Partner“ gleichzeitig in einem Gemisch vorhanden, lassen sie sich nur mit besonderen Methoden chromatographisch trennen.

Um diese Frage zu klären, wurden die Gemische zuerst auf silikonisiertem Papier nach SCHLENK (s. S. 174) bei -6°C chromatographiert. Hier sollten sich gesättigte und ungesättigte Fettsäuren trennen (SCHLENK u. a., 1957; KAUFMANN und MOHR, 1958), indem die ersteren am Startpunkt bleiben, die letzteren jedoch entsprechend ihrem Laufwert gegen die Front wandern sollten.

Anschliessend wurde senkrecht zur ersten Richtung bei 21° C in 80% Essigsäure entwickelt. An Testsubstanzen und natürlichen Gemischen wurde die Vollständigkeit der Kältetrennung für den Bereich des vorliegenden Experimentes überprüft.

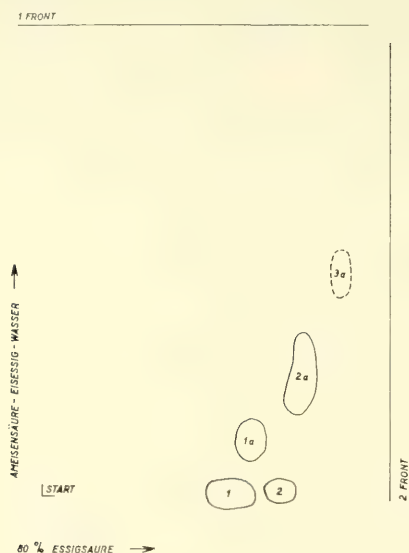


ABB. 4.

Zweidimensionales Chromatogramm der Fettsäuren (120 γ) weiblicher Larven von *Drosophila melanogaster*. Fleck 1 und 2: gesättigte Säuren. Fleck 1 a, 2 a und 3 a: ungesättigte Säuren. Steighöhen: I. 18,5 cm, II. 14 cm. Methode, s. S. 174.

Das Ergebnis der zweidimensionalen Chromatographie ist aus Abbildung 4 ersichtlich. Auf der Höhe der Startlinie sind zwei Flecken sichtbar (1 und 2), dementsprechend muss es sich hier um zwei gesättigte Fettsäuren handeln. Oberhalb der Startlinie sind drei Flecken sichtbar, 1a, 2a, 3a, entsprechend den drei bereits festgestellten ungesättigten Säuren. Der Fleck 3a kommt bei der Kupferhexacyanoferrat - II - Färbung im Vergleich zur Jodfärbung nur sehr schwach zur Geltung. Dies beruht auf den besonderen Eigenschaften der Nachweismethoden (s. S. 175). Die Befunde am zweidimensionalen Chromatogramm bestätigen die Auskünfte der eindimensionalen Chromatographie und erweitern sie insofern, als sie die Feststellung von mindestens zwei kritischen Paaren, er-

lauben. Bei der verwendeten Menge von 120 γ Gesamtfettsäuren war kein Fleck „3“ der als Partner des Flecks 3a hätte gelten können, nachweisbar.

Wie lassen sich nun diese Säuren näher identifizieren ?



Abb. 5.

Dichtediagramm der Fettsäuren (50 γ) weiblicher Larven von *Drosophila melanogaster*. Zugegeben wurden 25 γ Myristinsäure. Von links nach rechts: Erhöhung des zweiten Kurvengipfels. Entwicklung n. KAUFMANN S. 174. Steighöhe 28 cm. Vergl. mit Abb. 2.

Wir haben vorläufig darauf verzichtet die Lage der Chromatogrammflecke in Rf-Werten auszudrücken. Bei den eindimensionalen Chromatogrammen bestehen die Flecken ja überwiegend aus Säuregemischen. Hier wäre die Angabe eines Rf-Wertes wohl nicht eindeutig. Andererseits wurden mehrere Laufmittel und Papierimprägnierungen bei verschiedenen Temperaturen verwendet, deren Kombination eine solche Variation der Rf-Werte bedingt, dass es uns besser schien, eine vorläufige Orientierung über die Identität der untersuchten Säuren durch gleichzeitiges Mitlaufenlassen von Testsäuren zu gewinnen.

Da die Laufstrecken der einzelnen Säuren bekanntlich in Abhängigkeit von der aufgetragenen Menge variieren und Gemische sich ausserdem nicht gleich wie einzelne Säuren verhalten, wurden zur besseren Kontrolle der Laufwerte die Testsubstanzen den natürlichen Fettsäuregemischen am Startpunkt beigegeben. Im eindimensionalen Chromatogramm wurde Fleck 1 durch Palmitinsäure verstärkt, der zweite durch Myristinsäure (Abb. 5).

Damit dürften die beiden gesättigten Säuren der Flecken 1 und 2 mit guter Wahrscheinlichkeit als Palmitin- und Myristinsäure charakterisiert sein. Dagegen lässt sich die Identität ihrer ungesättigten Partner 1a und 2a nicht so eindeutig festlegen. Hat doch nach SCHLENK (1957) z. B. die Palmitölsäure den gleichen Laufwert wie das Paar Myristinsäure Linolsäure und damit ist die Vielzahl der Kombinationsmöglichkeiten keineswegs erschöpft. Hält man sich

an die Häufigkeit des Vorkommens der verschiedenen ungesättigten Fettsäuren in Naturfetten so kann man jedoch mit guter Wahrscheinlichkeit annehmen, dass der mit Palmitinsäure (Flecke 1) gekoppelte Fleck 1a Oelsäure enthält und der Fleck 2a Linolsäure, als Partner von Myristinsäure (Fleck 2). Die Identität des Flecks 3a ist schwer zu bestimmen, da ein gesättigter Partner nicht nachweisbar war. Seine Lage oberhalb und in der Nähe von Myristinsäure (Fleck 2) deutet darauf hin, dass es sich um Linolensäure oder eine andere ungesättigte Säure von gleichem Laufwert handeln dürfte.

Der Vergleich zwischen weiblichen Larven und Imagines zeigte keine auffälligen qualitativen Unterschiede.

Die vorliegenden Untersuchungen gestatten auch bereits eine orientierende Schätzung der Mengenverhältnisse der vorgefundenen Fettsäuren. Berücksichtigt man Molekulargewicht (SEHER, 1956) und Sättigungsgrad der Säuren (SCHLENK u. a., 1957), so kann man sagen, dass bei den gesättigten Säuren die Palmitinsäure vorherrscht (Fleck 1), während bei den ungesättigten, Fleck 1a und 2a etwa gleichwertig sind. Fleck 3a ist sehr schwach. Der Vollständigkeit halber sei noch hinzugefügt, dass wahrscheinlich noch Stearinsäure (knapp vor Fleck 1) und eine ungesättigte Säure (in der Nähe der Front) ab und zu in sehr geringen Mengen nachweisbar sind.

DISKUSSION

Aus den Angaben von HILDITCH (1957) ist zu entnehmen, dass das Fettsäureinventar, das wir für *Drosophila melanogaster*, aufstellen konnten, durchaus mit den Ergebnissen der wenigen Untersuchungen, die bisher über Insektenfett durchgeführt wurden, übereinstimmen. Bemerkenswert ist jedoch bei *Drosophila* das Vorhandensein von Myristinsäure, da sich nach HILDITCH diese Säure bei Insekten wenig findet.

Ein besonderer Vorteil der papierchromatographischen Methode ist die geringe Menge der zur Untersuchung notwendigen Substanz. Bei der Herstellung der Extrakte konnten wir feststellen, dass man bei *Drosophila melanogaster* pro Individuum mit Fettsäuremengen der Größenordnung zwischen 100 und 120 γ für Larven und von 60—90 γ für Imagines rechnen kann (s. S. 175). Die Mengen, die

wir für ein zweidimensionales Chromatogramm verwendeten, entsprechen also dem Fettsäuregehalt einer einzelnen Larve. Daneben können aber auch fünf- und zehnfach grössere Fettsäuremengen noch in befriedigender Weise erfasst werden. Bis jetzt konnten 5 verschiedene höhere, nichtflüchtige Fettsäuren oder Säuregruppen aus dem *Drosophila*-Fett isoliert werden.

Damit wären die Grundlagen zum Nachweis eines genspezifischen Manifestationsmusters auf dem Gebiet des Fettstoffwechsels vorhanden. Eine genauere Analyse wird nun bei einzelnen Mutanten die betroffenen Fettsäuren charakterisieren müssen. Das ist auf der Grundlage der in dieser Arbeit verwendeten Methode durchaus möglich. Vorläufige Untersuchungen lassen bereits vermuten, dass bei der Mutante *letal-meander* (*lme*, 2, 71 bis 73) von *Drosophila melanogaster* im eindimensionalen Chromatogramm ein charakteristischer Defekt im Fleck 2 nachweisbar ist. Die Methode sollte ausserdem bei anderen Objekten wie *Habrobracon juglandis* und *Ephestia kühniella* anwendbar sein. Ganz besonders bei *Ephestia* bestehen schon interessante Grundlagen für solche Untersuchungen. So konnten FRAENKEL und BLEWETT (1947) den Nachweis erbringen, dass die Linolsäure für die Normalentwicklung von *Ephestia* unentbehrlich ist. Bei Mangel dieser Säure entstehen Flügelmissbildungen gleicher Art, wie sie KÜHN und HENKE (1929) bei der Mutante „glasflügelig“ von *Ephestia* nachweisen konnten.

Selbstverständlich wird der Untersuchungsbereich noch erweitert werden müssen. Insbesondere müssen noch die niedermolekularen flüchtigen Fettsäuren erfasst werden. Neuerdings sind auch auf diesem Gebiet papierchromatographische Nachweismethoden entwickelt worden (z. B. MANGANELLI und BROFAZI, 1957).

Jedenfalls wird es bald möglich sein, die Genetik der Fettstoffwechselstörungen im gleichen Umfang zu erfassen, wie es im Augenblick bereits für erbliche Defekte des Pterin- oder Aminosäurenmetabolismus möglich ist.

Summary.

1. A micromethod for extracting the acetone soluble lipids of *Drosophila melanogaster* was devised.

2. After saponification, the higher, non volatile fatty acids were separated by inverse phase paper chromatography.

3. Five spots could be detected. Two of them correspond to saturated acids (palmitic and myristic), three exhibit the typical properties of unsaturated acids and contain most probably oleic, linolic and perhaps linolenic acids. Traces of stearic acid could be found.

4. The meaning of these results for biochemical genetics is discussed.

LITERATUR

- BEGG, M. and ROBERTSON F. W. 1950. *The embryonal requirements of Dros. mel.* J. exp. Biol 26: 380.
- FRAENKEL, F. and BLEWETT, H. M. 1947. *Linolic Acid and Arachidonic Acid in the Metabolism of two Insects, Ephestia kühniella (Lep) and Tenebrio molitor (Col)* Biochem. J. 41: 475.
- HADORN, E. 1945. *Zur Pleiotropie der Genwirkung.* Arch. Klaus Stiftg. 20: 82.
- 1955. *Letalfaktoren in ihrer Bedeutung für Erbpathologie und Genphysiologie der Entwicklung.* G. Thiene 1-338.
- 1956. *Patterns of biochemical and developmental pleiotropy.* Cold Spring Harbor Symposia on quantitative Biology Vol. XXI, 363.
- HILDITCH, T. P. 1956. *The chemical constituents of natural fats.* 3 ed. 1-664. Chapman a. Hall Ltd.
- KAUFMANN, H. P. 1953. *Zur Biologie der Fette; Glyceride, Fette u. Seifen,* 55: 673.
- und NITSCH, W. 1954. *Die Papierchromatographie auf dem Fettgebiet XVI: Weitere Versuche zur Trennung von Fettsäuren.* Fette und Seifen 56: 154-158.
- und MOHR, E. 1958. *Die Papierchromatographie auf dem Fettgebiet XXIV: Weitere Untersuchungen über die Papierchromatographie der Fettsäuren.* Fette u. Seifen 60: 165.
- KÜHN, A. und HENKE, K. 1929. *Genetische und entwicklungsphysiologische Untersuchungen an der Mehlmotte Ephestia kühniella* Z. Abh. Ges. Wiss., Göttingen, N. F. 15.
- LEVINSON, Z. H. and SILVERMAN, P. H. 1954. *Studies on the Lipids of Musca vicina (Macq) during growth and Metamorphosis.* Bioch. J. 58: 294.
- LOVERN, J. A. 1957. *The chemistry of Lipids of Biochemical Significance.* 2nd ed. London Methuen a. Co. Ltd.
- MANGANELLI, R. M. und BROFOZI, F. R. 1957. *Die quantitative Bestimmung von flüchtigen Säuren durch Papierchromatographie.* Analyt. Chem. 29: 1441.
- MARCUSSON, J. 1952. *Die Untersuchung der Fette u. Oele.* Wilh. Knapp 1-322.

- SCHLENK, H., GELLERMANN, L. J., TILLOTSON, J. A. and MANGOLD, H. K. 1957. *Paper Chromatography of Lipids*. J. Am. Oil Chem. Soc. 34: 377-86.
- SEHER, A. 1956. *Quantitative Bestimmung papierchromatographisch getrennter langkettiger Carbonsäuren auf photometrischem Wege*. Fette Seifen Anstrichmittel 58: 498.
- WHITEHOUSE, M., BRESLER, ANN and STAPLE, E. 1958. *The use of iodine for the detection of lipids*. J. of chromatography 1: 385.

N^o 9. **F. Baltzer** und **P. S. Chen**, Bern und Zürich. —
Über das zytologische Verhalten und die Synthese
der Nukleinsäuren bei den Seeigelbastarden *Para-*
centrotus ♀ × *Arbacia* ♂ und *Paracentrotus* ♀
× *Sphaerechinus* ♂ ¹.

Aus der Zoologischen Station in Neapel und den zoologischen Instituten
der Universitäten Bern und Zürich.

Die beiden Verfasser haben seit drei Jahren die Entwicklung von Seeigelbastarden in verschiedener biochemischer Richtung untersucht. Dabei war die Zusammenarbeit immer dieselbe: F. BALTZER stellte das Material bereit, das dann P. S. CHEN zur biochemischen Untersuchung übernahm. Der Aufenthalt des letzten Jahres war der Messung der Nukleinsäuren gewidmet. Sie soll in diesem Jahr weitergeführt werden. Im vorliegenden Aufsatz dreht es sich um zwei Bastardkombinationen, um "PA,, d.i. *Paracentrotus lividus* ♀ × *Arbacia lixula* ♂ und um "PS,, d.i. *Paracentrotus* ♀ × *Sphaerechinus granularis* ♂ und um die beiden Nukleinsäuren: die Ribonukleinsäure (RNS), die vor allem im Nukleolus und im Plasma lokalisiert ist und um die Desoxyribonukleinsäure (DNS), lokalisiert in den Chromosomen. Der interessante Punkt unserer Untersuchung ist, dass die beiden Bastarde gerade im Verhalten der Kerne gegensätzlich sind.

¹ Ausgeführt mit Unterstützung durch den Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung.

I. ZYTOLOGISCHE UNTERSUCHUNG.

Bei PA bleibt das artfremde väterliche Chromatin während der ganzen, dem Bastard möglichen Entwicklung am Entwicklungsgang beteiligt. Dieser entwickelt sich also mit diploidem Chromosomensatz, d.h. mit 38 Chromosomen, wovon 18 zu *Par.* und 20 zu *Arb.* gehören. Die Entwicklung bleibt normal bis zur Ausbildung der alten Blastula mit eingewandertem Mesenchym. Dann werden die Keime abnormal. Sie erreichen noch ein gehemmtes Gastrulastadium und bleiben in diesem auch noch einen Tag am Leben. Dann sterben sie mit Kernpyknose ab. Plutei entwickeln sich nur sehr selten und kommen für die Nukleinsäure-Bestimmungen nicht in Betracht. (F. BALTZER et al. 1954. — WHITELEY and BALTZER, 1958).



ABB. 1.

Chromosomenelimination in der ersten Furchungsmitose bei PS (Kombiniert aus Baltzer, 1910, Fig. 25 a und b.) Die eliminierten Chromosomen sind die nicht getrennten Doppelemente im Äquator der Mitose. Vergr. 2150 \times .

Bei PS aber kommt es, wie BALTZER vor Jahren gefunden hat (BALTZER 1910), schon während der ersten Furchungsmitosen zu einer tiefgehenden Störung. Wie die mütterlichen treten auch die väterlichen Chromosomen aus dem Befruchtungskern hervor. Aber bei den meisten väterlichen Elementen können sich die Tochterchromosomen nicht voneinander lösen. Sie bleiben als Doppelemente im Äquator der Furchungsspindel liegen und werden aus der Mitose eliminiert (Abb. 1). Nur bei 3—4 Sphaerechinuschromosomen geht die Verteilung der Tochterelemente normal vor sich. Infolge dieser Elimination enthalten die Anaphaseplatten der nächsten Furchungsmitosen einen nahezu haploiden Chromosomenbestand, nämlich 18 Paracentrotus- und 3—4 Sphaerechinuschromosomen. Die 16—17 eliminierten Doppelemente, die den 32—34 einfachen

S-Chromosomen entsprechen, bleiben zunächst im Plasma liegen.

Diese schon 1910 gefundene Elimination wurde im letzten Frühjahr 1959 an Essigkarminpräparaten weiter untersucht. Es zeigt sich, dass sich die aus der Mitose eliminierten Elemente zunächst noch weiter vermehren. In Abb. 2 ist ein 4- 8- Zellen-

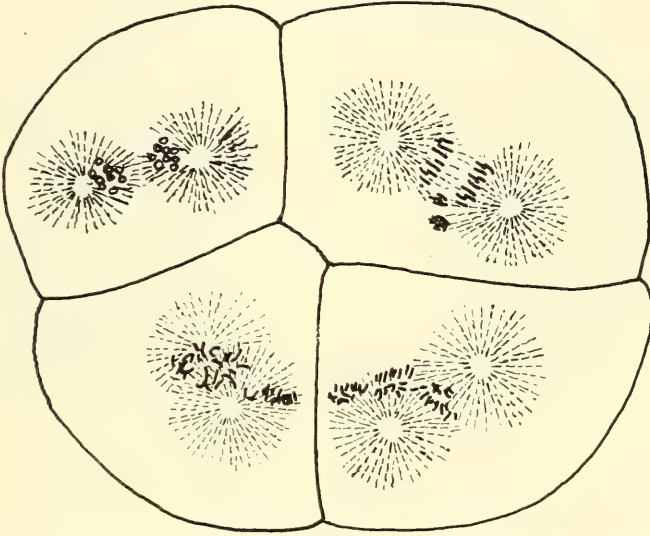


Abb. 2.

4-Zellenstadium von PS im Übergang zum 8-Zellenstadium. Alter 2 h. 30. (Zucht 151.) In allen 4 Zellen normale 2-polige Mitosen. 3 enthalten, den Mitosesphären seitlich zugeordnet, Haufen eliminiierter Chromosomen. In der Anaphase der Zelle rechts oben ca. 21 Chromosomen gezählt. Vergr. 1010 \times .

stadium mit den vier Teilungsmitosen gezeichnet. Eine Zelle enthält eine Äquatorialplatte, drei Zellen enthalten Anaphasen. In der Tochterplatte einer dieser Anaphasen konnte die herabgesetzte Zahl von 21 Chromosomen festgestellt werden. Ausserhalb der Mitosenplatten aber enthalten diese Keime eine beträchtliche Zahl von eliminierten, den Mitosestrahlungen seitlich angelagerten Elementen. Sie sind auf die vier Zellen sehr verschieden verteilt. Zwei Zellen enthalten in Abb. 2 den Hauptbestand. Es lässt sich leicht feststellen, dass in diesem, wie in anderen Keimen des gleichen Stadiums die Gesamtzahl der nun

vorhandenen eliminierten Chromosomen die ursprüngliche Anzahl von 32—34 beträchtlich übersteigt. Im Fall von Abb. 2 waren im ganzen Keime ausserhalb der Mitose etwa 50 Chromosomen zu zählen. Mit andern Worten: auch die aus den Mitosen eliminierten Chromosomen haben sich zunächst weiter vermehrt, wenn auch

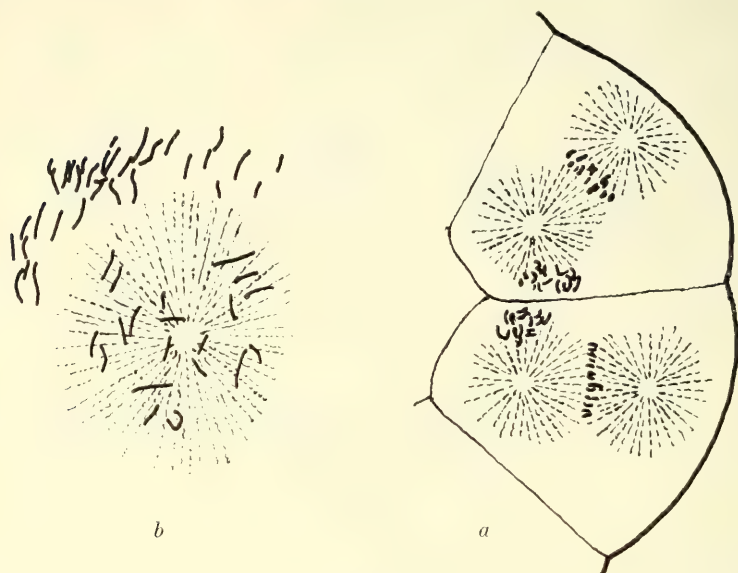


ABB. 3.

- a b.* Einzelteile aus approximativ 32—64-zelligen PS—Keimen. Alter 7 h. Keime in 13° gezüchtet.
- a.* 2 Zellen mit Metaphasen. Der inneren (der Morulahöhle zugekehrten) Sphäre liegen in beiden Zellen Haufen von eliminierten Chromosomen an. Ohne Camera gezeichnet.
- b.* Äquatorialplatte, vom Spindelpol aus gesehen, mit 20 Chromosomen (in der Fig. nur eine Sphäre gezeichnet). Der Spindel liegen seitlich 31 eliminierte Chromosomen an. Vergr. 2500 ×.

wahrscheinlich nicht im normalen Mass. In Abb. 3 sind Ausschnitte aus 16-32-zelligen Keimen gegeben. Auch hier haben die eliminierten Elemente noch deutlich den chromosomalen Typus. 3a zeigt, den Strahlungen anliegend, zwei Ansammlungen eliminierten Elemente. In 3b ist eine Einzelzelle aus einem solchen Keim gezeichnet. Ihre Äquatorialplatte enthält die reduzierte Zahl von 20 Chromosomen, ausserhalb liegen 34 ausgeschiedene Elemente.

In 8- stündigen jungen Blastulen hat sich das Bild geändert. Dann finden sich in der Wand grosse bis riesenhafte Kernblasen in verschiedener Zahl (Abb. 4), die wir auf das eliminierte Chromatin beziehen müssen, ausserdem zahlreiche Mitosen mit redu-

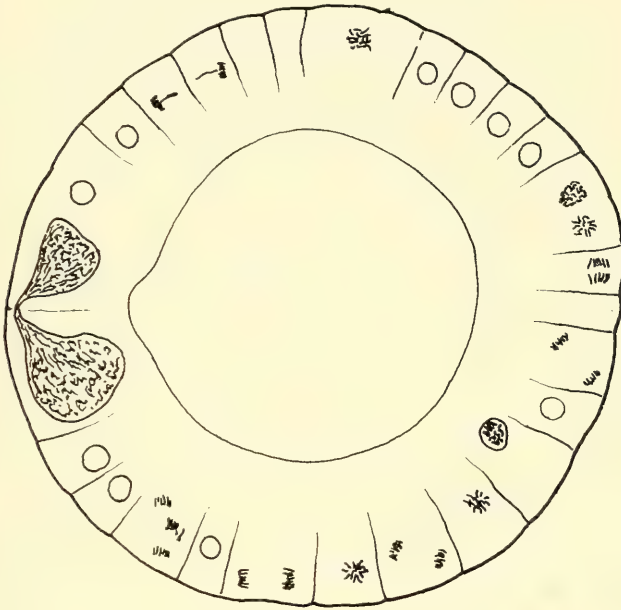


Abb. 4.

Junge PS- Blastula. Alter 8 h. Essigkarminpräparat. Wandung mit diminierten Kernen und Mitosen. Die überwiegende Masse des eliminierten Chromatins bildet 2 sehr grosse Kernblasen auf der linken Keimseite (Zucht 152.) Vergr. 1010 \times .

ziertem Chromosomenbestand (\pm 21 Chromosomen) und ruhende verkleinerte Kerne. In 14- stündigen, eben ausgeschlüpften Keimen ist das eliminierte Kernmaterial ins Blastocoel übergetreten (vgl. BALTZER 1910, Textfig. V u. VI.) Damit ist auch die weitere Entwicklung anormal. Die Gastrulation ist, wenn sie überhaupt begonnen wird, stärker gehemmt als bei PA.

Es war naturgemäss von Interesse, die Nukleinsäurewerte der beiden Bastardtypen, die das gleiche Eiplasma, aber verschieden sich verhaltendes väterliches Chromatin haben, unter sich und mit den Normalstadien der reinen Arten zu vergleichen.

II. BIOCHEMISCHE UNTERSUCHUNG.

In einer früheren Arbeit berichteten WHITELEY und BALTZER (1958), dass die Synthese der DNS bei PA, im Vergleich mit den entsprechenden Stadien der mütterlichen Art, eindeutig reduziert erscheint. In der Periode der morphogenetischen Hemmung, d.h. vom späten Blastulastadium an, ist der DNS-Gehalt von PA ungefähr intermediär zwischen den beiden elterlichen Arten. Der RNS-Gehalt dieses Bastards wurde nicht bestimmt. Es ist von Interesse, zu wissen, wie die Reduktion der DNS-Synthese auf das Verhalten der RNS wirkt.

Über das Verhalten beider Nukleinsäuren des PS-Bastards liegt keine Untersuchung vor. Es stellt sich nun die Frage, welchen Einfluss die frühzeitige Herabsetzung des regulären Chromosomenbestandes (auf nahezu die haploide Garnitur) auf die DNS-Synthese hat, und ob die eliminierten S-Chromosomen, mindestens für eine kurze Zeit, DNS zu synthetisieren vermögen. Ferner, wie bei PA, soll die Frage beantwortet werden, ob das Verhalten der RNS durch die Chromosomenelimination beeinflusst wird.

In beiden Bastardkombinationen bestimmten wir den Gehalt an DNS und RNS der 3 elterlichen Arten und verglichen mit den zugehörigen Hybriden.

Es wurde die von SCOTT, FRACCASTORO und TAFT (1956) ausgearbeitete mikrochemische Methode für die Bestimmung der Nukleinsäuren gebraucht. Für die DNS-Messungen an unbefruchteten Eiern betrug die Eizahl pro Bestimmung ca 6000. Für die übrigen Messungen, vom späteren Blastulastadium an, erwiesen sich 500—700 Keime pro Bestimmung als ausreichend. Aus dem Verlauf der Absorptionskurve, der linearen Beziehung zwischen Eizahl und Nukleinsäuremenge und dem Vergleich der Messwerte mit Angaben früherer Autoren ergab sich, dass das angewandte mikrochemische Verfahren für die Bestimmung der Nukleinsäuren an Seeigelkeimen geeignet ist.

1. *Die reinen Arten* (PP, AA und SS).

Wie aus Abb. 5, 6 und 7 ersichtlich ist, verhalten sich bei allen 3 untersuchten Seeigelarten die beiden Nukleinsäuren während

ABKÜRZUNGEN IN ABB. 5 UND 6.

h	Schlüpfen der jungen Blastula aus Befruchtungsmembran.
My	primäres Mesenchym.
Bl My-1	Blastula mit einwanderndem Mesenchym.
Bl My-2	Mesenchymzellen in Blastula zu Ring geordnet.
Ga-1	Beginn der Darm-Invagination.
Ga-I $\frac{1}{2}$ oder Ga- $\frac{1}{2}$	Gastrula mit halb invaginiertem Darm.
Ga-I $\frac{1}{3}$ oder Ga- $\frac{1}{3}$	Gastrula mit vollständig invaginiertem Darm.
Pri	Prisma.
Pl-1 und Pl-2.	Kegelförmige Pluteus-Stadien.

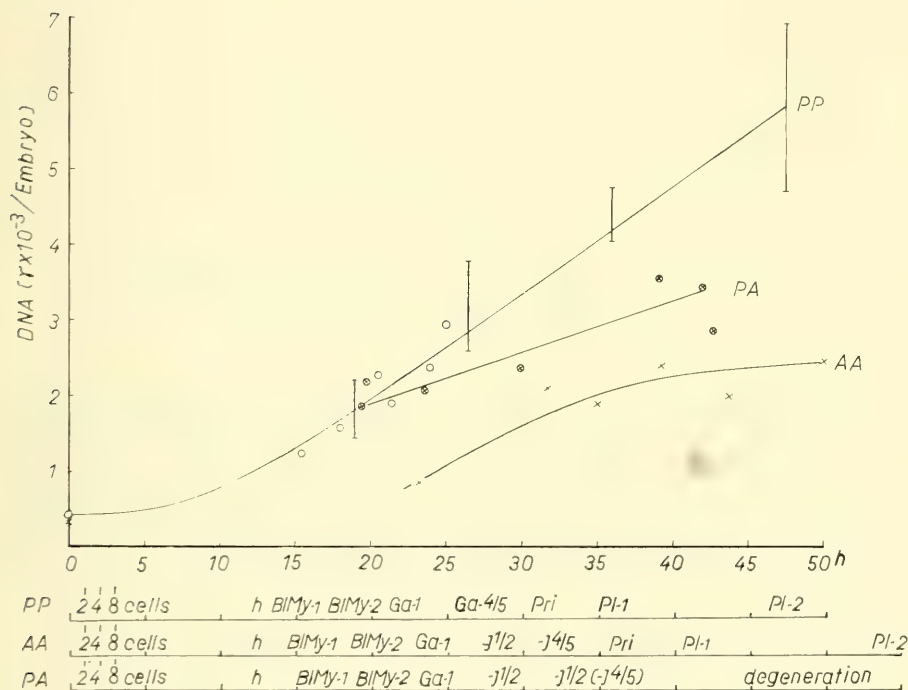


ABB. 5.

Veränderungen des DNS-Gehalts während der Entwicklung von PP (o), AA (x) und PA (⊗).

Ordinate: DNS ($\gamma \times 10^{-3}$) pro Embryo. Abszisse. Alter in Stunden nach der Befruchtung bei 18°C. Die Werte von PP und AA sind nach den Entwicklungsstadien eingetragen, und diejenigen von PA nach dem Entwicklungsalter. Jeder Punkt ist der Mittelwert von 2—3 Bestimmungen. Die vertikalen Linien zeigen die extremen Werte des gleichen Entwicklungsstadiums aus verschiedenen Zuchtserien. Die Kurve für PP vor Bl My-1 ist nach der Angabe von Whiteley und Baltzer (1958) eingezeichnet.

der Entwicklung bis zum jungen Pluteus völlig verschieden: der Gehalt an RNS bleibt nahezu konstant, während der Gehalt an DNS eindeutig zunimmt. Dieses Verhalten ist auch bei anderen Seeigelarten von zahlreichen Autoren nachgewiesen worden. (s. Literatur in CHEN 1959, S. 285).

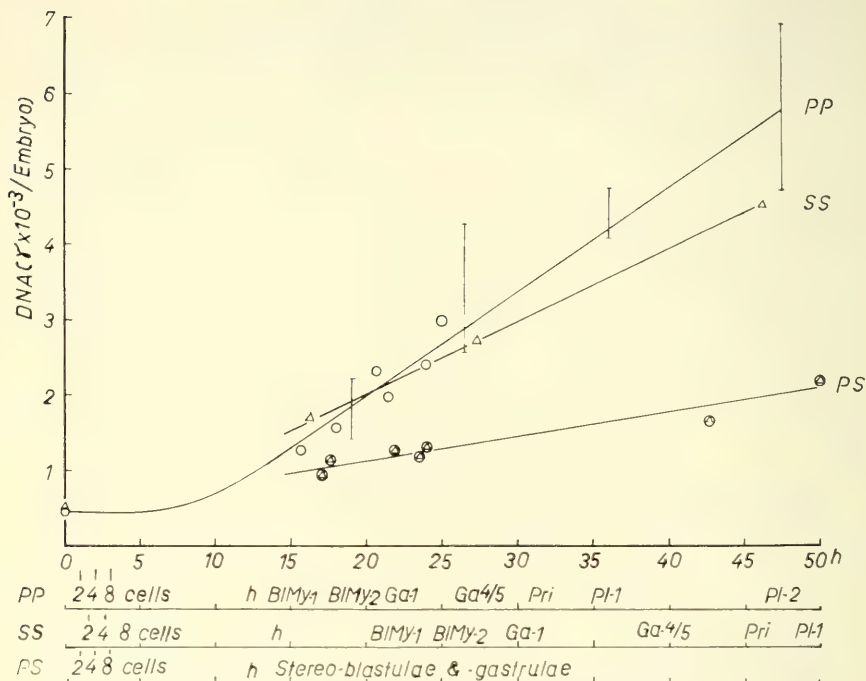


ABB. 6.

Veränderungen des DNS-Gehalts während der Entwicklung von PP (o), SS (Δ) und PS (\odot). Für weitere Erklärungen siehe Abb. 5.

Die absolute RNS-Menge ist aber bei den 3 untersuchten Arten verschieden: der Mittelwert vom Ei bis zum frühen Pluteus (Pl-1) beträgt $5,4 \times 10^{-3}$ pro Embryo für PP, $3,36 \times 10^{-3}$ für AA und $5,13 \times 10^{-3}$ für SS. Da die überwiegende RNS im Cytoplasma lokalisiert ist, sollen die Eigrößen dieser 3 Arten berücksichtigt werden. Das Eivolumen von AA ist 59-, und deren Total-N 64% von PP (WHITELEY and BALTZER 1958; BALTZER, CHEN und WHITELEY 1958; CHEN 1958). PP und SS haben das gleiche Eivo-

lumen und den nahezu gleichen Total-N. Werden die RNS-Mengen pro γ Total-N ausgerechnet, so ergeben sich für die 3 Arten fast die gleichen Werte: 0,42 für PP, 0,38 für AA und 0,35 für SS.

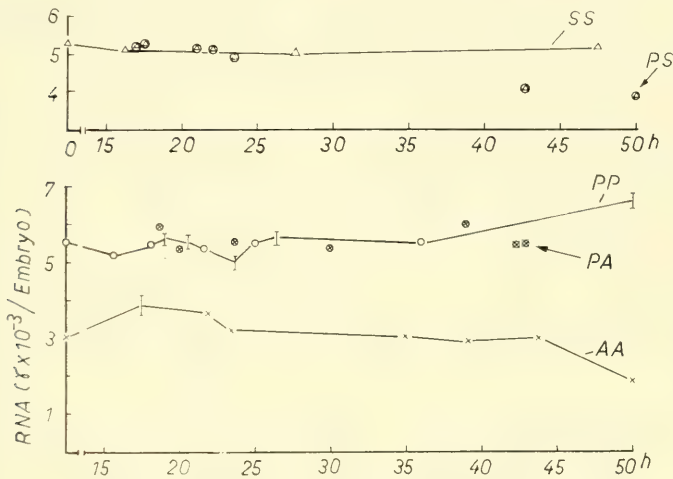


ABB. 7.

RNS-Gehalt der Keime von PP, AA, SS, PA und PS. Für weitere Erklärungen siehe Abb. 5 und 6.

Wie die Kurven in Abb. 5 und 6 zeigen, nimmt DNS bei allen 3 Arten im Laufe der Entwicklung regelmässig zu. Bei PP ist der DNS-Gehalt vom unbefruchteten Ei bis zum frühen Pluteus um das 13,2fache erhöht, bei AA um das 5,7fache und bei SS um das 8,8fache. Aus ihren eigenen Bestimmungen und einer Zusammenstellung der von verschiedenen Autoren angegebenen Messzahlen, stellten WHITELEY und BALTZER (1958, S. 443) fest, dass in der Periode von früher Blastula bis zum mittleren Pluteus die Erhöhung des DNS-Gehalts bei allen untersuchten Seeigelarten zwischen dem 6- und 14fachen variiert. Das vorliegende Resultat liegt also in diesem Variationsbereich. Im Alter von 43 Stunden beträgt die DNS-Menge von AA 44,2% von PP. Auch dieses Verhältnis stimmt mit dem Untersuchungsergebnis von WHITELEY und BALTZER gut überein.

2. Die Bastarde (PA und PS).

Für die Bastardkombination PA wurden 2 Entwicklungsstadien für die Bestimmung der Nukleinsäuren gewählt: (1) von später Blastula bis zum Beginn der Gastrulation (MyBl2/Ga-1); (2) das Hemmungsstadium, welches altersgemäss dem frühen bis mittleren Pluteus (P1-1/P1-2) der PP entspricht.

Die DNA-Synthese bei PA steht vom Ende der Blastulation bis zum Beginn der Gastrulation bereits hinter den mütterlichen Kontrollen (82-85% von PP, Abb. 5). Der relative DNS-Gehalt der alten PA (von "Pluteus-Alter", ist 69-73% der PP im Stadium Pl-1 und 52% der PP im Stadium Pl-2. Die entsprechenden Werte sind 63-67% und 56% nach WHITELEY und BALTZER (1958), die eine ganz andere Methode für die DNS-Bestimmung angewandt haben. Diese Reduktion der DNS-Synthese ist wohl auf die genetische Konstitution des Bastardkeims zurückzuführen.

Die RNS-Werte von PA sind bei allen 3 untersuchten Serien nahezu gleich und unterscheiden sich kaum von denjenigen der mütterlichen Kontrollen (91-107% von PP, Abb. 7). Dies bedeutet, dass der Gehalt an RNS des Bastards nicht durch die Reduktion der DNS-Synthese beeinflusst wird.

Für die Kombination *Paracentrotus* ♀ × *Sphaerechinus* ♂ wurden PP- und SS- Keime von später Blastula (BlMy 1-2) oder früher Gastrula (Ga-1 oder Ga-1½) und PS-Bastarde des entsprechenden Alters aus Parallelzuchten gemessen. Ferner wurden Bestimmungen an PS-Stereoblastulen im Alter von 42h40 und 50h durchgeführt. Wie Abb. 6 zeigt, enthalten die PS-Keime bereits zu Beginn der Gastrulation eindeutig weniger DNS als die PP-Kontrollen (66-76%). Obwohl im Verlaufe der weiteren Entwicklung eine schwache Zunahme der DNS bei PS festgestellt wurde, beträgt der Gehalt solcher alten Stereoblastulen nur noch 32-35% von PP. Der DNS-Gehalt von PP ist ähnlich wie bei SS. Falls alle mütterlichen und die 3-4 zurückgebliebenen väterlichen Chromosomen normal funktionierten, wäre der DNS-Gehalt von PS 58% von PP zu erwarten. (Unsere neuen Untersuchungen im Frühling 1960 bestätigten, dass die DNS-Synthese

von PS nahezu auf die Hälfte der mütterlichen Art reduziert ist. Die genauen Messwerte sollen in einer späteren Publikation veröffentlicht werden.)

Unsere Bestimmungen zeigen also, dass schon in den jungen PS-Stereoblastulen weniger DNS synthetisiert wird, und dass die Diskrepanz, verglichen mit den PP- und SS- Werten, in den späteren Stereoblastulen noch zunimmt. Die eliminierten S-Chromosomen scheinen zuerst noch DNS zu synthetisieren. Der stark herabgesetzte DNS- Gehalt der alten Stereoblastulen ist vermutlich auf die zunehmende morphogenetische Störung des Bastards zurückzuführen.

Bis zum späten Blastula- oder frühen Gastrulastadium ist die RNS-Menge von PS normal (95-98%) (Abb. 7). Damit wird gezeigt, dass die Elimination der S-Chromosomen keine unmittelbare Wirkung auf den RNS-Gehalt hat. Im Alter von 42-50 Stunden ist aber die RNS-Menge von PS nur noch 69-74% von PP. Da das eliminierte Chromatin schon in der jungen PS-Blastula mit einem Teil des Plasmas ins Blastocoel abgestossen wird und verloren geht, könnte der Verlust des Zellmaterials für diesen herabgesetzten RNS-Gehalt verantwortlich sein.

LITERATURVERZEICHNIS

- BALTZER, F. 1910. *Über die Beziehung zwischen dem Chromatin und der Entwicklung und Vererbungsrichtung bei Echinodermenbastarden.* Arch. Zellf. 5: 496.
- ET AL. 1954. *Über die Entwicklungshemmungen der Seeigelbastarde Paracentrotus ♀ x Arbacia ♀ und Psamechinus ♀ x Arbacia ♂.* Rev. suisse de Zool. Vol. 61: 402.
- CHEN, P. S. und WHITELEY, A. H. 1958. *Biochemical studies on sea urchin hybrids.* Exptl. Cell Research, Suppl. 6: 192.
- CHEN, P. S. 1958. *Further studies on free amino acids and peptides in eggs and embryos of different sea urchin species and hybrids.* Experientia 14: 369.
- 1959. *Über den Nukleinsäure- und Proteinstoffwechsel der Frühentwicklung bei Seeigeln.* Naturf. Ges. Zürich. 104: 248.
- SCOTT, J. F., A. P. FRACCASTORO und TAFT, E. B. 1956. *Studies in histochemistry: I. Determination of nucleic acids in microgram amounts of tissue.* J. Histochem. Cytochem. 4: 1.

- WHITELEY, A. H. und F. BALTZER. 1958. *Development, respiratory rate and content of desoxyribonucleic acid in the hybrid Paracentrotus ♀ x Arbacia ♂*. Pubbl. Staz. Zool. Napoli 30: 402.

N^o 10. **Renate Becker**, Basel. — Bau und Funktion des Genitalsystems von *Bosellia mimetica* Trinchese ¹.

Zoologische Anstalt der Universität Basel.

Bei einer Exkursion 1956 in Villefranche-sur-mer wurde *Bosellia mimetica* — seit 1890 verschollen — zum ersten Mal wieder gefunden (PORTMANN 1958). Der Grund zu diesem Übersehen ist die ungewöhnliche cryptische Wirkung in Gestalt und Färbung. *Bosellia* lebt ausschliesslich auf ihrer Futterpflanze *Halimeda tuna*.

Was ich in dieser Mitteilung zur Kenntnis von *Bosellia* beitragen möchte, soll sich auf Bau und Funktion des Genitalsystems beschränken, soweit ich beides an Hand von eigenen Beobachtungen am lebenden Tier in Neapel und Banyuls und durch das Studium von Schnittserien rekonstruieren konnte. Für meine Untersuchungen wurden von 85 Tieren vollständige Schnittserien hergestellt. Sie umfassen Exemplare von 0,8—10 mm Länge, die von Villefranche, Banyuls und Neapel stammen.

Wir gehen von einem reifen Exemplar von *Bosellia* aus, bei dem die Zwitterdrüsen sowohl reife Eier als auch Spermien entwickelt haben (Fig. 1). Ähnlich wie bei *Elysia* befindet sich die männliche Geschlechtsöffnung vor der weiblichen und auf der rechten Seite des Tieres unterhalb der Rhinophoren. Die Follikel der Zwitterdrüsen sieht man zahlreich im hinteren Körperabschnitt durch die Hautoberfläche durchscheinen. Von diesen gehen die Zwittergänge

¹ Diese Arbeit wurde durch die Unterstützung seitens des Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung ermöglicht. Ich danke Herrn Prof. A. Portmann für seine Anregungen und Fräulein E. Sandmeier für ihre technische Hilfe und für die Herstellung der Zeichnungen.

aus, die mit einer Ringmuskulatur versehen sind. Je nach dem funktionellen Stadium sind sie gleichmässig weit aufgetrieben oder zusammengezogen und dann von perlschnurartiger Gestalt. Diese

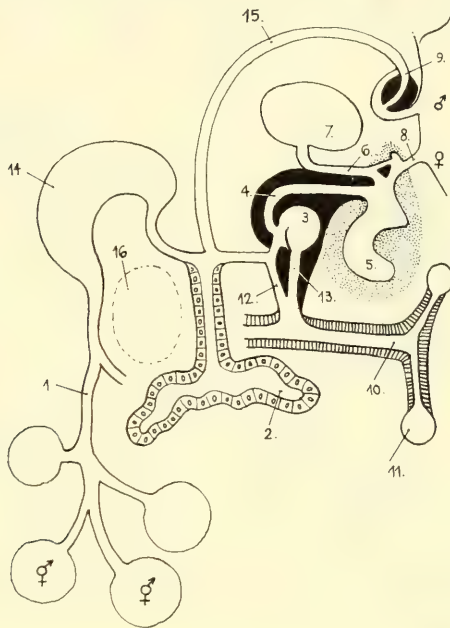


FIG. 1.

Genitalsystem von *Bosellia mimetica*.

LEGENDE ZU ALLEN FIGUREN:

1. Zwittergang. — 2. « Prostate ». — 3. Kugliger Behälter. — 4. Drüsiger Gang dieses Behälters. — 5. Hohlraum der Schleimdrüse. — 6. Gang, der zum Sekretbehälter führt. — 7. Sekretbehälter. — 8. Ausführung von der Scheimdrüse zur weiblichen Geschlechtsöffnung. — 9. Penis. — 10. Drüsengänge, die zu den Ampullen führen. — 11. Ampullen mit fremden Spermien. — 12. Gang, der vom kugligen Behälter zu den Drüsengängen führt. — 13. Zurückführender Gang zum kugligen Behälter. — 14. Zwittergang-Ampulle. — 15. Vas deferens. — 16. Magen. — weisser Kopf = fremde Spermien. — schwarzer Kopf = eigene Spermien. — Kreis = Eizellen. schwarze Punkte = Sekret.

in allen Teilen des Körpers liegenden Gänge vereinigen sich links vom Magen zu einem kurzen gemeinsamen Gang, der in die grosse Ampulle des Zwitterganges führt. Sie liegt quer vor dem Magen und ist meistens prall mit Spermien angefüllt. Kurz vor der

Eiablage enthält sie Eier, die die Spermamasse an die Wand der Ampulle drängen. Auch die Zwittergänge sind vor der Begattung voll von Spermien und vor der Eiablage mit Eiern angefüllt. Rechts vom Magen führt ein schmaler Ausführungsgang der Zwittergang-Ampulle caudalwärts und verbindet sich an seiner ventralsten

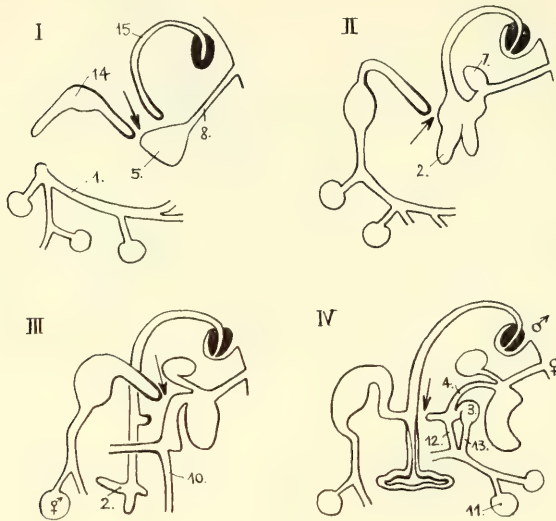


FIG. 2.

Vier Entwicklungsstadien des Genitalsystems.

Stelle mit dem Vas deferens. Der Ausführungsgang geht aber noch ein kleines Stück weiter dorsal bis in einen kugeligen Behälter, der links oben auf der Schleimdrüse liegt. Bei der Begattung wandern die eigenen Spermien durch die Zwittergang-Ampulle hindurch bis in diesen Behälter, also über die Verbindungsstelle mit dem Vas deferens hinweg, und wandern dann den kurzen Weg zurück ins Vas deferens (Fig. 3). Dieses steht in direkter Verbindung mit einer verzweigten Drüse, die quer hinter dem Magen liegt. Diese Drüse ist schon am Anfang der männlichen Phase voll aktionsfähig und scheidet ihr Sekret aus, wenn das Vas deferens und die Zwittergänge Spermien führen. Sie muss in Analogie mit anderen Opisthobranchiern zu den „Prostatadrüsen“ gezählt werden. Das Vas deferens führt als einfacher Gang weiter quer über die Schleimdrüse

und in einigen Windungen zum Penis. Dieser liegt in einer Penis-scheide und wird bei der Begattung nach aussen vor gestülpt (Fig. 4).

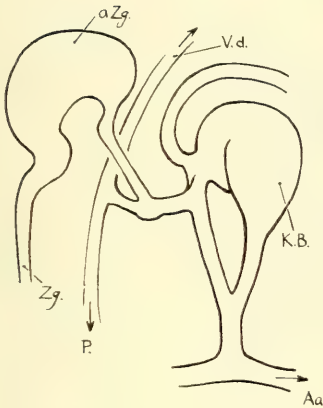


FIG. 3.

Weg der eigenen Spermien aus der Zwittergang-Ampulle in den kugeligen Behälter und zurück und Vas deferens.

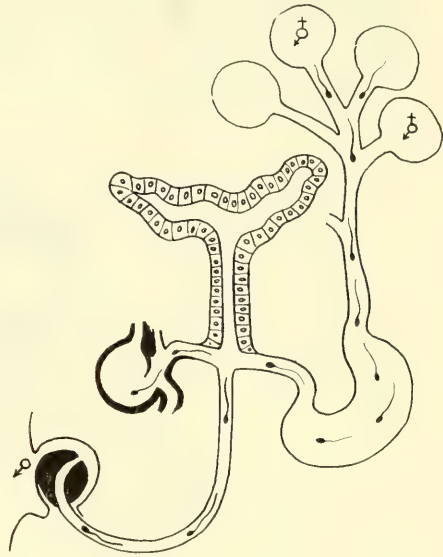


FIG. 4.

Weg der Spermien von der Zwitterdrüse bis zum Penis.

Die Eier machen den gleichen Weg wie die Spermien bis zum kugeligen Behälter (Fig. 5). Von diesem führt ein drüsiger Gang nach vorne, quer über die dorsale Wand der Schleimdrüse hinweg, und mündet in den rostralen Abschnitt ihres riesigen Hohlraums ein. Von dieser Stelle aus führt auch ein Gang zur weiblichen Geschlechtsöffnung nach aussen und ein dritter, gegabelter Gang zu einem grossen, mit Sekret gefüllten Behälter, der zwischen dem Penis und der Ampulle des Zwittergangs liegt (Fig. 1).

Die Schleimdrüse ist schon bei den kleinsten Tieren deutlich sichtbar. Ihren drüsenartigen Charakter erhält sie jedoch erst bei Beginn des weiblichen Stadiums der Zwitterdrüsen. Schon früh besteht eine Verbindung ihres Hohlraums mit dem Vas deferens, dagegen ist der Ausgang zu der Zwittergang-Ampulle und damit auch zu den Zwitterdrüsen geschlossen und der mit Sekret gefüllte Behälter noch nicht vorhanden (Fig. 2).

Weiter als bis in den Ausführungsgang der Zwittergang-Ampulle konnte ich den Weg der Eier auf den Schnitten nicht beobachten und kann daher über die Bildung des in flacher Spirale gerollten Geleges und den Ort der Befruchtung nichts aussagen. Die Befruchtung der Eier muss aber im Moment der Bildung der Eispirale

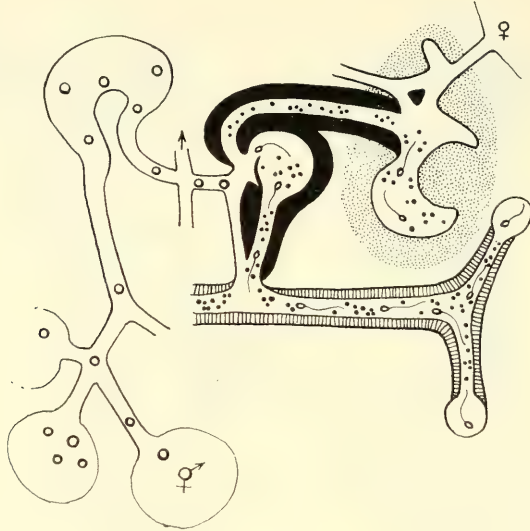


FIG. 5.
Weg der Eizellen.

stattfinden, denn ich konnte mehrfach die Eier frischer Gelege beobachten, die gerade im Stadium der ersten Reifeteilung waren.

Das bisher Besprochene zeigt keine wesentlichen Besonderheiten gegenüber den Beschreibungen des Genitalsystems von *Elysia* oder anderen Ascoglossen wie *Stiliger* und *Hermaea*.

Dagegen verdient bei *Bosellia* der Weg und die Aufbewahrung der fremden Spermien nach der Begattung besondere Beachtung. Schon sehr früh, bei 1,2—3,2 mm Länge, d. h. am Anfang der männlichen Phase, können diese kleinen Bosellien begattet werden, in einem Reifestadium des Tieres also, bei dem die fremden Spermien überhaupt noch nicht befruchten können. Das Alter eines Tieres spielt für die Begattung keine Rolle. *Bosellia* kann zu jeder

Zeit begattet werden. PORTMANN glaubte in Analogie zu *Elysia* u. a., dass einer männlichen Phase des jugendlichen Tieres die weibliche der ausgewachsenen Form folge. Meine Beobachtungen widerlegen diese Ansicht: Auf allen Stadien finden gegenseitige Begattungen statt.

Es gelang mir, den Weg zu rekonstruieren, den die fremden Spermien machen. Nachdem die Tiere den Körper des Partners

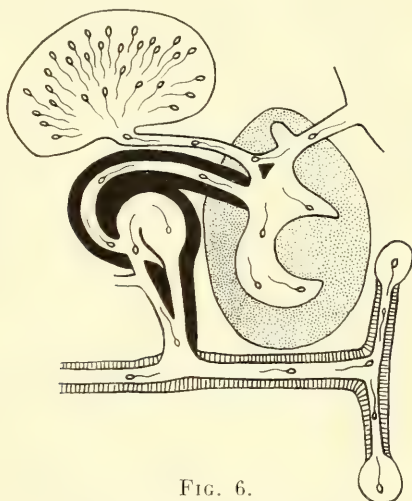


FIG. 6.
Weg der fremden Spermien.

mit ausgestülptem Penis rundherum bis zur weiblichen Geschlechtsöffnung abgetastet haben, wird der Penis wechselweise an diese gepresst und darauf wie ein Ballon gebläht. Die Spermien ergiessen sich zuerst in den schmalen Einführgang und dann in den grossen Hohlraum der Schleimdrüse. Ein Teil der Spermien wandert dann weiter in den grossen Sekretbehälter. Dieser ist seiner Lage nach mit der Spermathek der Elysien zu vergleichen. Seine Funktion bei *Bosellia* kenne ich noch nicht. Ein anderer Teil der fremden Spermien wandert durch den zweiten abführenden Gang in den bereits erwähnten kugeligen Behälter. Von der Einmündungsstelle der Zwittergang-Ampulle führt ein Gang ein kurzes Stück caudalwärts, erweitert sich etwas und läuft wieder als breiter drüsiger Gang zum kugeligen Behälter zurück (Fig. 6).

In diese untere Erweiterung, wo sich die beiden Gänge gabeln, mündet ein nach allen Seiten des Körpers reich verzweigtes Gangsystem, das vielfach den Zwittergängen parallel läuft, sich aber noch weiter als die Zwitterdrüsen bis an den Rand des Tierkörpers erstreckt. An vielen seiner Endstellen bildet dieses Kanalsystem ampullenartige Erweiterungen. Die fremden Spermien wandern von kugeligen Behälter durch diese Gänge und füllen die endständigen Ampullen, die somit ein Reservoir für fremde Spermien darstellen. Diese Ampullen wurden in keiner der mir zugänglichen Arbeiten über *Ascoglossen* beschrieben; sie müssen also als eine Besonderheit von *Bosellia mimetica* gelten.

Am deutlichsten kann man den Weg der fremden Spermien bei ganz jungen Tieren beobachten, deren Zwitterdrüsen eben im Beginn der männlichen Entwicklungsphase stehen. Die vorhin erwähnten besonderen Gänge sind leer bei Tieren, die nicht begattet worden sind; ebenso sind die Endstellen nicht zu Ampullen erweitert. Sobald die weibliche Entwicklungsphase begonnen hat, sind die Ampullen immer mit Spermien gefüllt. Man muss annehmen, dass alle diese Tiere vorher einmal begattet wurden.

In diesem Entwicklungsstadium der Zwitterdrüsen werden die Wände des Gangsystems zu Drüsen mit apokrinen Zellen. Ich vermute, dass dieses System dem röhrigen Drüsenlager von BERGH entspricht, das MARCUS (1955) bei *Elysia* als Eiweissdrüse identifiziert hat. Über die Funktion dieser Drüsen kann ich nichts aussagen. Sicher bilden sie ihr Sekret besonders intensiv, wenn sich Eier in den Zwittergängen und der Zwittergang-Ampulle befinden. Dieses Sekret wandert, mit fremden Spermien vermischt, in den Hohlraum der Schleimdrüse und ebenfalls in den grossen Sekretbehälter zwischen Penis und Zwittergang-Ampulle.

Zusammenfassend sei noch einmal das Eigenwertige am Genitalsystem für *Bosellia mimetica* hervorgehoben:

1. Die frühe Begattung zu Beginn der männlichen Reife.
2. Die zahlreichen Ampullen an den Endstellen des drüsenartigen Gangsystems, als Reservoir für fremde Spermien.

Beim Austritt der Eier aus den Zwitterdrüsen vor der Eiablage wandern die Spermien aus diesen Ampullen zurück in den Hohlraum der Schleimdrüse.

LITERATURVERZEICHNIS

- MARCUS, E. 1955. *Opisthobranchia from Brasil*. Zoologia 20, Bol. 207. Sao Paulo.
- PORTMANN, A. 1958. *Boselia mimetica Trinchese, Opisthobranchie retrouvée en Méditerranée*. Vie et Milieu, tome IX, fasc. I.
-

N^o 11. **E. Ernst**, Basel. — Fremde Termitenkolonien in *Cubitermes*-Nestern¹. (Mit 1 Textabbildung)

Schweizerisches Tropeninstitut Basel.

Zwischen den Individuen verschiedener Termitenkolonien herrscht ausgesprochene Feindschaft, die bei zufälligen oder künstlich herbeigeführten Begegnungen sehr deutlich zu Tage tritt (ESCHERICH 1911). Trotzdem finden wir in der Literatur eine Reihe von Angaben, dass in den Nestern gelegentlich verschiedene Arten gefunden wurden. Gewisse Termitenarten wurden bisher überhaupt nur in den Nestern anderer Termiten angetroffen. Über die Natur der gegenseitigen Beziehungen ist aber nur wenig bekannt (HEGH 1922, HANDSCHIN 1933, WASMAN 1934, GRASSÉ 1949, NOIROT 1959).

Im Zusammenhang mit allgemeinen biologischen Studien an Termiten bot mir ein Aufenthalt in Tanganyika mannigfache Gelegenheiten, solche mehrfach bewohnten Nester zu untersuchen, wobei den verschiedenen Formen der Vergesellschaftung ein besonderes Augenmerk geschenkt wurde. Neben den grossen *Bellicositermes*- und *Odontotermes*-Hügeln, in denen fast regelmässig weitere Arten kohabitieren, liegen bei den kleineren Erdbauten von *Cubitermes* besonders charakteristische Verhältnisse vor, die unser Interesse verdienen.

¹ Für die Ermöglichung dieser Studienreise bin ich Herrn Prof. Dr. R. Geigy, Vorsteher des Schweizerischen Tropeninstituts zu besonderem Dank verpflichtet, wie auch dem Schweizerischen Nationalfonds für die gewährte finanzielle Unterstützung.

Die Vertreter der ausschliesslich in der äthiopischen Region verbreiteten Gattung *Cubitermes* errichten 30—70 cm hohe Erdnester, deren Inneres aus wabigen, miteinander in Verbindung stehenden Kammern besteht. Während die *Cubitermes*-Nester anderer afrikanischer Gegenden jene bekannte Pilzform aufweisen, konnten in Tanganyika entweder nur einfache kegel- und kolbenförmige Türmchen oder dann massivere polydome Bauten festgestellt werden. In der Umgebung von Tanga und im Ulangatal (im Nordosten, resp. Südosten des Landes) sind diese Nester in lichten Wäldern und in offenen Savannen recht häufig anzutreffen, wobei die Besiedlung an gewissen Stellen derart dicht sein kann, dass die Abstände von Nest zu Nest nur wenige Meter betragen,

Es stellte sich nun heraus, dass von nahezu 150 untersuchten *Cubitermes*-Nestern ein sehr hoher Prozentsatz (rund 70%) weitere Termitenarten enthielt. Die Besiedlung durch Fremdtermiten beschränkte sich entweder auf einzelne Gänge und Kammern oder umfasste grössere Teile der *Cubitermes*-Nester. Die Wohnverhältnisse waren oftmals nicht leicht zu klären, vor allem wenn gleichzeitig mehrere fremde Kolonien vorhanden waren. In einigen Fällen wurden bis zu 5 eingewanderte Arten festgestellt, die auf engstem Raum zusammen lebten.

Alle kohabitierenden Arten gehören Gattungen der *Termitidae* an. In der Reihenfolge der Häufigkeit sind zu nennen: *Microcerotermes*, weitere *Cubitermes*-Arten, *Microtermes*, *Ancistrotermes*, *Amiatermes*, *Noditermes*, *Crenetermes*, *Euchilotermes* und *Trinervitermes*; seltener kommen *Procubitermes*, *Termes* und *Promirotermes* vor. Bei gelegentlichen Funden von *Nasutitermes*, *Odontotermes* und *Allodontermes* kann nicht von einer eigentlichen Besiedlung gesprochen werden.

Zunächst sollen die hauptsächlichsten Formen der Kohabitation dargestellt werden, wie sie bei den einzelnen Arten beobachtet wurden.

Die *Procubitermes*, *Termes* und *Promirotermes* wurden nur in den peripheren und basalen Nestpartien gefunden, wo sie in den Zwischenwänden der *Cubitermes*-Kammern ein feinverzweigtes Netz von engen Laufgängen anlegten, in denen aber nur Teile der Kolonien, nie die Geschlechtstiere oder Brut, angetroffen wurden. Es war nicht möglich, ihre feinen Gänge in der Umgebung weiter zu verfolgen. Über die unterirdische Lebensweise und die Nester dieser

Termiten ist sehr wenig bekannt. Auch über die Biologie von *Euchilotermes* weiss man wenig Bescheid. Im Gegensatz zu den obigen kleineren Arten fanden diese sich in unverändert übernommenen *Cubitermes*-Kammern vor.

Noditermes und *Crenetermes* übernehmen ebenfalls ganze *Cubitermes*-Kammern unverändert, wobei besonders *Noditermes* mehrmals als ganze Kolonie in einem umschriebenen Komplex angetroffen wurde. Beide sind mit *Cubitermes* nahe verwandt und bauen auch selbständige Nester von ähnlicher Form und Innestruktur, die in gleicher Weise von anderen Termitenarten (*Ancistrotermes* und *Microcerotermes*) mitbewohnt werden.

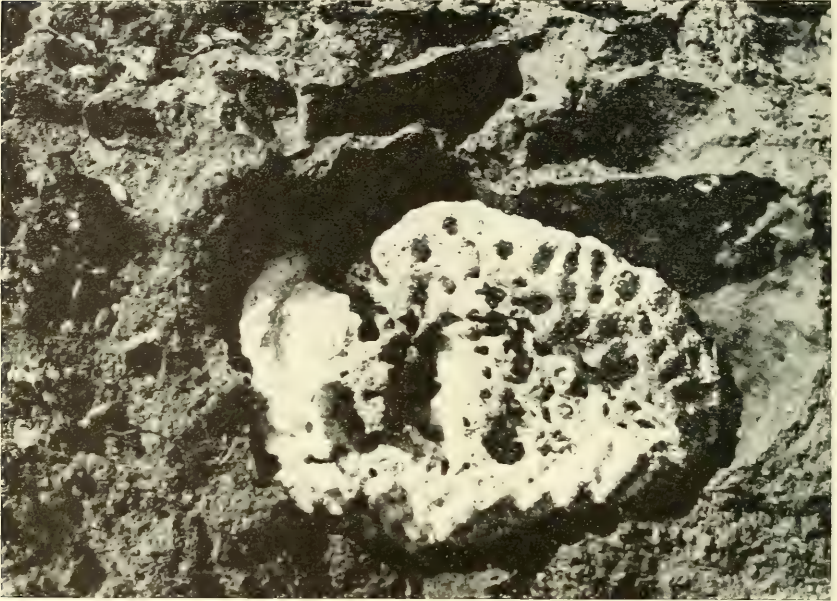
Die von *Amitermes* und *Trinervitermes* bewohnten Nestteile sind leicht zu erkennen. Während die ersteren die Wände mit einer dünnen Schicht aus hellem stercoralem Holzkarton überziehen, verändern die *Trinervitermes* — vor allem bei starker Invasion — die vorgefundene Neststruktur, sodass die übernommenen Nestpartien ihrer arttypischen, aufgelockerten Bauweise entsprechen.

Die Macrotermitinen *Ancistrotermes* und *Microtermes* legen ihre Nester unterdisch in Form von unregelmässig verstreuten Höhlungen an, welche durch feine Gänge miteinander in Verbindung stehen und die Pilzgärten beherbergen. Diese Anlage wird auch bei der Besiedlung von *Cubitermes*-Nestern beibehalten, indem lediglich einzelne Pilzgärten (siehe. Abb.) deponiert werden. Der hierzu benötigte Raum wird durch Abtragen der Zwischenwände benachbarter Kammern gewonnen. Die meisten Pilzgärten lagen in den basalen Partien der *Cubitermes*-Nester, gelegentlich wurden sie aber auch in den oberirdischen Teilen beobachtet.

Grössere Erdnester wurden öfters von verschiedenen *Cubitermes*-Arten gemeinsam bewohnt. Welche Kolonie als die eigentliche Erbauerin des Nestes in Frage kam, liess sich in vielen Fällen nicht eindeutig abklären. Die Möglichkeit einer Verschmelzung von ursprünglich unabhängigen Nestern muss ebenso in Betracht gezogen werden wie die nachträgliche Einwanderung in einen bestehenden Bau.

Wie oben erwähnt, wurden *Microcerotermes*-Arten am häufigsten in *Cubitermes*-Nestern angetroffen. Ihre unabhängigen Nester bestehen aus stercoralem Holzkarton und sind ganz oder nur teilweise unterirdisch angelegt. Dringen diese *Microcerotermes* nun in *Cubitermes*-Nester ein, so kleiden sie die in Beschlag genommenen

Kammern in gleicher Weise wie *Amitermes* mit ihren Exkrementen aus. Bei den zahlreichen Funden wurde eine ganze Reihe von verschiedenartigen Besiedlungsformen beobachtet. Zu den ersten Stufen gehören jene Fälle, wo nur wenige Galerien in den Zwischenwänden der basalen Nestpartien angelegt sind. Von diesen Lauf-



Pilzgarten von *Microtermes* in der Basis eines *Cubitermes*-Nestes. Die Gangsysteme beider Arten sind unmittelbar benachbart, aber getrennt. Links sind Arbeiter von *Cubitermes* mit dem Verschliessen ihrer Kammern beschäftigt. Die viel kleineren *Microtermes*-Arbeiter ziehen sich in der Pilzgartenhöhle zurück.

gängen ausgehend werden nach und nach ganze Kammern übernommen, und später erstreckt sich der Befall auf mehr oder weniger grosse Komplexe des apicalen *Cubitermes*-Nestes. Schliesslich liegen auch Funde von vollständigen Kartonnestern mit der gesamten Kolonie in lebenden wie in ausgestorbenen *Cubitermes*-Bauten vor.

Es ist anzunehmen, dass die dargestellte Reihenfolge des *Microcerotermes*-Befalls ganz allgemein der Besiedlung eines *Cubitermes*-Nestes entspricht, ein Prozess, der sicher nur langsam vor sich geht. Infolge der abgeschlossenen Lebensweise der Termiten,

lässt sich das Eindringen einer fremden Termitenart nicht direkt beobachten. Wir sind daher auf Vergleiche von möglichst vielen, verschieden stark besiedelten Nestern angewiesen.

Die eingehenden Untersuchungen der Lageverhältnisse liessen klar erkennen, dass die Gangsysteme der verschiedenen Arten untereinander nicht in Verbindung stehen, wenn diese auch oft sehr innig miteinander verflochten sind. Die feinen Galerien der kleineren Fremdtermiten verlaufen ausschliesslich in den Zwischenwänden der *Cubitermes*-Kammern; die von grösseren Arten in Besitz genommenen Zellen und Nestteile sind an den Grenzen sorgfältig abgeschlossen. Diese Abschlüsse bestehen aus demselben Material und weisen die gleiche Struktur wie das Nest auf, sodass sie vermutlich von den *Cubitermes*-Arbeitern angebracht wurden.

Dass die Kammern und Wege der verschiedenen Termiten vollständig getrennt sind, bestätigen die erbitterten Kämpfe, die beim Eröffnen der gemischten Nester ausbrechen. Abgesehen von *Trinervitermes*, wo der Anteil der Soldaten besonders gross ist, wird die Verteidigung des eigenen Nestbezirkes hier nur selten von den wenigen Soldaten übernommen. Vielmehr sind es die Arbeiter, welche die Eindringlinge anfallen, zur Umkehr veranlassen oder sich gegenseitig derart festbeissen, dass beide Gegner daran zugrunde gehen. Bei der äusserlichen Ähnlichkeit der Arbeiter von *Cubitermes*, *Noditermes*, *Crenetermes* und *Euchilotermes* wird man meistens erst durch solche Kämpfe auf das Vorhandensein verschiedener Termitenarten aufmerksam; dies gilt ganz besonders für kohabitierende *Cubitermes*.

Auf Grund der Beobachtungen an geöffneten Nestern darf angenommen werden, dass auch unter den natürlichen Umständen zwischen den scheinbar friedlich beisammen lebenden Termitenarten keine direkten Beziehungen bestehen. Vermutlich finden bei der Übernahme von *Cubitermes*-Kammern durch Eindringlinge zunächst Kämpfe statt, ehe die einzelnen Nestbezirke abgeschlossen werden. Die Ursachen der „Einnistung“ sind nicht bekannt. Das Eindringen fremder Arten in *Cubitermes*-Nester scheint jedoch zur Hauptsache eine Folge der äusserst dichten Termitenfauna in gewissen Gebieten zu sein, wobei die vielen zusammengedrängten Kolonien gezwungen sind, jeden sich bietenden Lebensraum auszunützen.

LITERATUR

- ESCHERICH, K. 1911. *Termitenleben auf Ceylon*. Jena 179 pp.
- GRASSÉ, P. P. 1949. *Isoptères ou Termites*. Traité de Zool. 9: 408-544. Paris.
- HANDSCHIN, E. 1933. *Über sogenannte gemischte Kolonien bei Termiten*. Verh. Schweiz. Naturf. Ges. 114: 384-385.
- HEGH, E. 1922. *Les Termites*. Bruxelles, 756 pp.
- NOIROT, Ch. 1959. *Remarques sur l'écologie des termites*. Ann. Soc. Roy. Zool. Belg. 89: 151-169.
- WASMANN, E. 1934. *Die Ameisen, die Termiten und ihre Gäste*. Regensburg, 148 pp.

N^o 12. — **R. Geigy**, und **P. Suter** Basel. — Zur Copulation der Flöhe.

Schweizerisches Tropeninstitut.

Es gelang im Spätsommer 1958, den bekannten tropischen Geflügel-Ektoparasiten *Echidnophaga gallinacea* aus Tanganyika zu beziehen und dank einer besonderen Methode fortlaufend im Laboratorium zu züchten.

Dieses Material diene zu zahlreichen Beobachtungen über die Biologie und die Fortpflanzung dieser Flohart, die wegen gewissen Ähnlichkeiten mit dem Sandfloh besonderes Interesse bietet. Bekanntlich bleibt das Weibchen der *Echidnophaga*, wenn es sich auch nicht eigentlich in die Haut einbohrt, wie dasjenige des Sandflohs, lange Zeit an bestimmten, von ihm präferierten Stellen des Geflügelkopfes (Lid, Kamm, Kehllappen usw.) mit dem Rüssel fixiert und verlässt den einmal gewählten Ort nur ganz ausnahmsweise.

In dieser Mitteilung soll lediglich die Frage erörtert werden, ob ein Zusammenhang besteht zwischen der Eiablage der Weibchen und der Copula bzw. auch einer allenfalls vorangegangenen Blutmahlzeit, wobei Vergleiche mit dem Sandfloh und einem gewöhnlichen Rattenfloh angestellt werden.

In einer ersten Versuchsgruppe wurden frisch geschlüpfte Weibchen und Männchen über eine Woche in einer Glastube zu-

sammengehalten und täglich während längerer Zeit überwacht. Eine Copula konnte nie beobachtet werden. Anschliessend wurden zur genaueren Kontrolle Quetschpräparate der weiblichen Spermatheken bzw. der Hoden im Phasenkontrastmikroskop untersucht, wobei es sich zeigte, dass die ersteren durchwegs leer, die Hoden dagegen mit reifen Spermien erfüllt waren. Es hatte somit keine Befruchtung stattgefunden, obschon die Männchen über einen genügenden Samenvorrat verfügten. Es galt nun zu untersuchen, was den Ausschlag zur Copulation gibt.

In einer zweiten Versuchsreihe wurden frisch geschlüpfte Weibchen und Männchen am Kopf eines Hahnes angesetzt. Aber es fand auch so keine Copula statt, bis mindestens zum zweiten Tag. Erst am Vormittag des 3. Tages begannen die Weibchen ihre ersten Eier auszustossen. Die Copulae, die nicht direkt beobachtet wurden, müssen in der vorausgegangenen Nacht stattgefunden haben, was darauf hinweist, dass die Weibchen Blut aufnehmen und eine gewisse Reifeperiode durchmachen müssen, bis die Männchen auf sie ansprechen.

Dies ergibt sich auch aus der dritten Versuchsserie. Diesmal wurden frisch geschlüpfte Weibchen auf zwei verschiedenen Wirten angesetzt. Nach drei Tagen wurde der einen Weibchengruppe abends zwischen 17 und 18 Uhr Männchen beigegeben, die sofort, oder nach einer kurzen Blutmahlzeit von ca. 10 Minuten, copulierten. Am nächsten Tag um 8 Uhr hatte jedes der begatteten Weibchen durchschnittlich 5 Eier abgelegt. Da ein Weibchen innert 24 Stunden bei Tag und Nacht gleichmässig ca. 12 Eier abgibt, kann man schliessen, dass die Ablage sehr bald nach der Copula einsetzt, bzw. durch sie ausgelöst wird. Dies zeigt auch das Verhalten der anderen Gruppe von Weibchen, die ohne Männchen auf dem zweiten Wirt sassen, jedoch nicht fähig waren auch nur ein Ei abzulegen. Diese Abhängigkeit der Eiablage von einer vorausgehenden Copula ist eine Regel, die in unserer Zucht vielfach bestätigt werden konnte, so z. B. auch dann, wenn Weibchen, denen der Samenvorrat in der Spermatheke ausgegangen war, bis zur nächsten Copula ihre Legefähigkeit völlig einbüssten.

Diese Befunde bei *Echidnophaga* entsprechen nun durchaus früheren Beobachtungen von GEIGY (1953)¹ an *Tunga penetrans*.






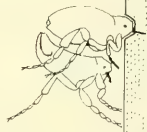




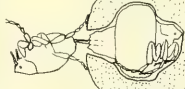

¹ GEIGY, R. 1953. *Sandfloh-Probleme* Naturwiss. 40: 40-42.

Dort wurde festgestellt, dass das Sandflohweibchen erst begattet werden kann, wenn es unter die Haut eingedrungen und dort in Hypertrophie getreten ist. Frischgeschlüpfte, freie Sandflohweibchen wurden von den Männchen, mit denen sie zusammengehalten wurden, nie beachtet. Erst das unter der Haut verborgene Stadium wirkte attraktiv, sein Geschlechtspol wurde von den Männchen mit lebhaftem Palpenspiel wahrgenommen und dann die Copula vollzogen.

Es ist nun das Verhalten von *Echidnophaga* noch mit demjenigen eines unabhängigeren d. h. nur anlässlich der Blutmahlzeit an den Wirt gebundenen Flohs verglichen worden, nämlich mit *Xenopsylla cheopis*. Auch dort bestätigte sich, dass frischgeschlüpfte, ungefütterte Weibchen die Männchen nicht anziehen und erst nach ca. 4 Tagen, d. h. nach mehreren Blutmahlzeiten und nach Reifung der Ovariolen copulationsfähig werden. Bei dieser sozusagen freilebenden Flohart findet die Begattung in der Regel auf dem Boden statt, bzw. auf der Unterlage, auf welcher der Wirt (Ratte, Hamster, etc.) gehalten wird. Bei Störungen flüchten sie sogar in Copula vereinigt.

Die Abbildung gibt eine schematische Darstellung der Copulationsabläufe bei den drei untersuchten Flohart. *Xenopsylla* ist als der wohl häufigste Typ des wenig wirtsgebundenen Flohs an den Anfang gestellt. Hier kriecht das Männchen von hinten unter die Bauchseite des Weibchens, krümmt die Abdomenspitze halbmondförmig nach oben und führt das Copulationsorgan ein. Nach ca. 10 Minuten trennen sich die Partner. Wie schon erwähnt, müssen für das Weibchen mehrere Blutmahlzeiten vorausgegangen sein, aber nicht für das Männchen, auch ist keine solche mit der Copula irgendwie gekoppelt. Bei den weit stärker am Wirt fixierten *Echidnophaga* sucht das Männchen das mit dem Stechrüssel verankerte Weibchen auf, schmiegt sich in ähnlicher Weise wie *Xenopsylla*, aber unter Steilstellung, der Bauchseite desselben an und copuliert. Dabei schwebt es in der Regel frei in der Luft. Beim Wiederabsetzen nach ca. 15 Minuten lässt es sich kopfvoran auf die Beine herunter und kann dann fakultativ gleich anschliessend eine Blutmahlzeit aufnehmen. Häufig werden vorher auch mehrere Weibchen hintereinander begattet. Bei *Tunga* erscheint die Copulationsstellung, entsprechend den besonderen Verhältnissen, am meisten modifiziert. Nach Aufstöbern des in die Wirtshaut versenkten

BEGEGNUNG DER GESCHLECHTER BEI FLÖHEN

Art	Geschlechter- findung	Vorbereitung zur Copula	Copula	nach der Copula
<i>Xenopsylla cheopis</i>				
<i>Echidnophaga gallinaea</i>				
<i>Tunga penetrans</i>				

Weibchens stellt sich das Männchen über dem Ejektionsporus steil auf das hinterste Beinpaar, versenkt das lange Copulationsorgan in die weibliche Geschlechtsöffnung und kippt dann nach vorne um, wobei es sich mit dem Rüssel in der Wirtshaut verankert. Es wird also hier während der Copula eine Blutmahlzeit aufgenommen und die Partner trennen sich erst nach ca. 20 Minuten.

Zusammenfassend lässt sich also feststellen, dass bei allen Floharten die Weibchen erst nach einer bestimmten Reifeperiode copulationsfähig werden. Was dann die Männchen anzieht, ist im einzelnen unbekannt, doch scheinen die Palpen die Rezeptoren zu sein für gewisse Duftstoffe, die wohl am Hinterpol abgegeben werden. Im Übrigen richten sich Ort und Stellung der Copulation nach der Intensität, mit welcher das Weibchen auf dem Wirt parasitiert.

N° 13. **H.-A. Guénin** et **A. Gautier**, Lausanne. — Observations sur la structure submicroscopique des chromosomes du *Blaps mucronata* Latr. (*Col. Tenebr.*). Note préliminaire. (Avec 1 figure dans le texte et deux planches.)

Laboratoire de Zoologie et d'Anatomie comparée et Centre de Microscopie électronique, Université de Lausanne.

Si la microscopie électronique a contribué pour une grande part au développement de nos connaissances sur la structure fine des constituants cytoplasmiques, elle n'a pas encore pu préciser quel est le plan d'organisation intime des chromosomes. Dans les cas favorables à l'observation, elle a montré que ces derniers se présentent sous forme de masses granulaires ou fibrillaires dont les contours sont rendus peu distincts par l'absence d'une membrane périphérique — l'espace interchromosomique étant lui-même granulaire — et dont les composants ne rappellent que peu, par leur disposition, les données de la cytologie classique ou les représentations des cytogénéticiens. Cependant, MOSES (1956, 1958) et FAWCETT (1956) ont constaté dans les chromosomes des sperma-

toocytes I l'existence d'un complexe axial longitudinal nettement individualisé qui correspond vraisemblablement à une partie du chromonéma de la microscopie optique. Mais ce complexe, n'ayant été décrit jusqu'ici que dans peu d'espèces animales et uniquement dans les cellules testiculaires en phase d'accroissement, ne pouvait être considéré en toute certitude comme étant une formation chromosomique constante. Aussi, dans les recherches sur la struc-

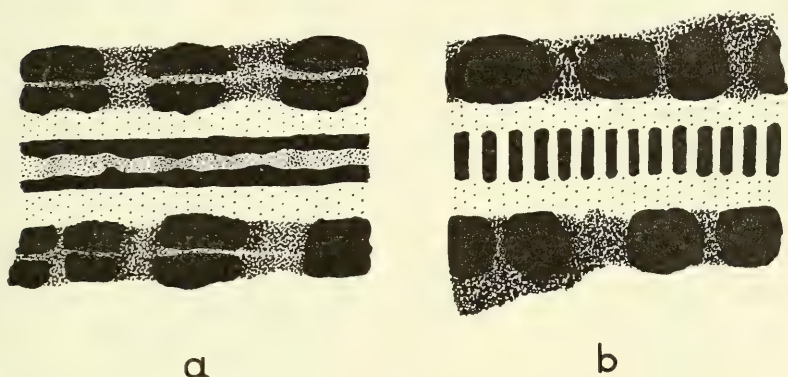
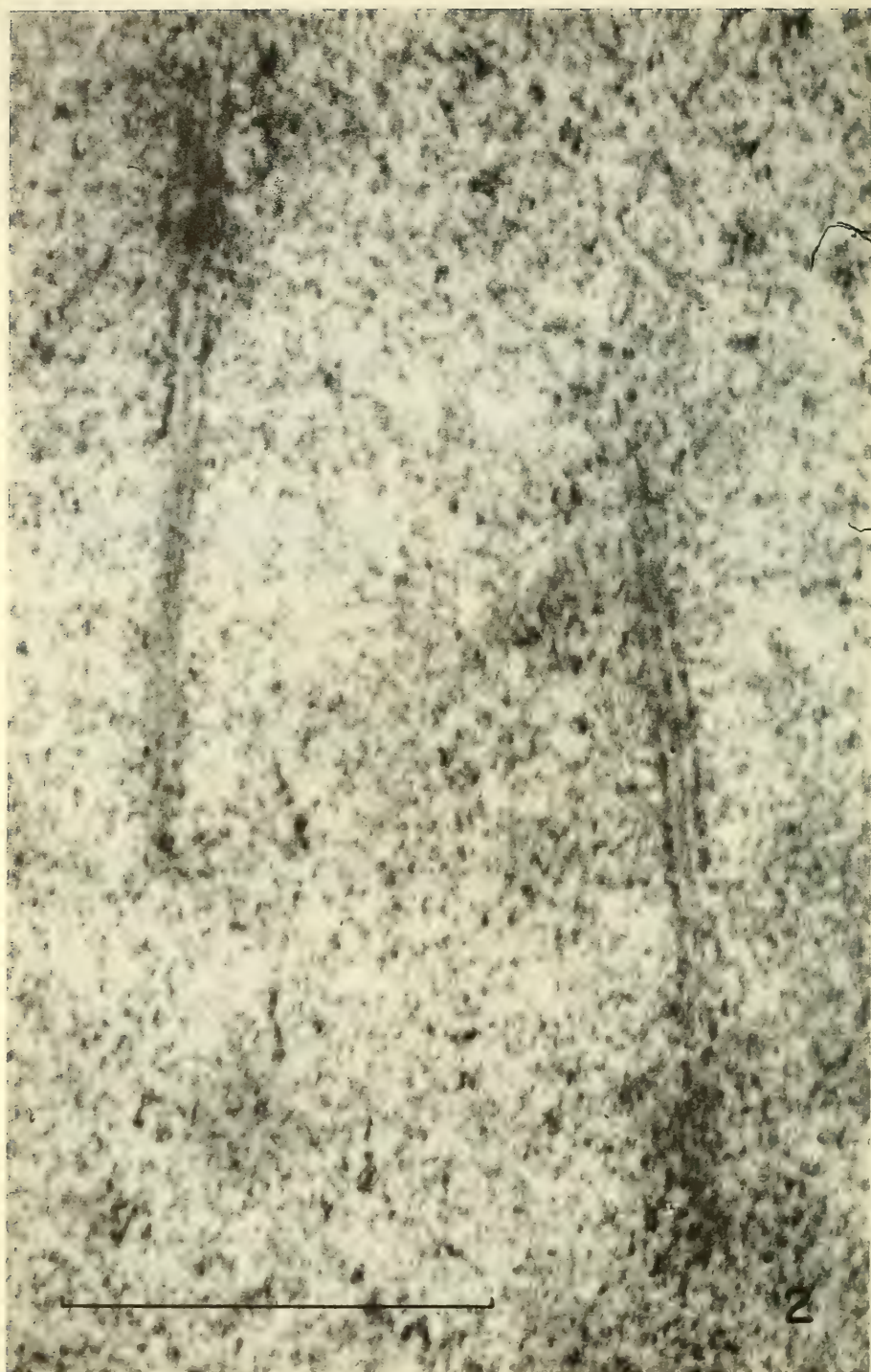


FIG. 1.

Représentation semi-schématique d'une coupe longitudinale du complexe axial spermatocytaire. En *a*, l'aspect le plus général; en *b*, une configuration plus rare.

ture submicroscopique des chromosomes que nous avons entreprises, nous sommes nous livrés tout d'abord à l'examen du constituant axial en choisissant pour matériel une forme appartenant à un ordre dont aucun représentant n'était encore exploré par la cytologie électronique dans le domaine qui nous intéresse: le *Blaps mucronata* LATR. Ce sont quelques observations se rapportant au complexe axial qui font l'objet de cette note préliminaire.

On sait que les *Blaps* s'élèvent facilement en laboratoire, qu'ils présentent de longues périodes d'activité sexuelle au cours de leur vie imaginale de plusieurs années, et que les éléments de la lignée germinale, chez ces Coléoptères, restent tous, plusieurs jours après la métamorphose, en phase de multiplication. Nous disposions ainsi, au long de plusieurs saisons, de gonades ne renfermant que des spermatogonies ou contenant simultanément tous les stades de la spermatogenèse. Des fragments de testicule, libérés des



trachées et du tissu adipeux annexes, ont été traités par différents fixateurs, mais seule la solution de tétroxyde d'osmium de Palade nous a donné de bons résultats. Les pièces ont été ensuite lavées rapidement à l'eau, puis deshydratées progressivement à l'acétone avant d'être incluses dans le polyester Vestopal W selon RYTER et KELLENBERGER (1958). Le microscope électronique utilisé est un appareil RCA de type EMU 3C. D'autres fragments, provenant des mêmes testicules, ont permis un contrôle en microscopie optique.

Le complexe axial des chromosomes spermatocytaires apparaît composé, en coupe longitudinale, de cinq bandes parallèles (fig. 1 à 3). L'élément central est large de 250 Å et comprend généralement deux formations linéaires denses entre lesquelles se trouve inclus un espace moins différencié (fig. 1 et 2); plus rarement (fig. 1 et 3), il prend un tout autre aspect, étant alors parcouru transversalement par des raies dont chacune, d'une épaisseur de 60 à 70 Å, est séparée des voisines par des intervalles d'égale dimension. De part et d'autre de la région médiane s'étend une bande claire, ample de 170 Å et non structurée. Enfin, en position marginale, les derniers constituants ont chacun une largeur de 320 Å environ, sont fortement contrastés, montrent en leur milieu une fissure longitudinale plus ou moins accusée et paraissent, par endroit du moins, formés de granules compacts alternant longitudinalement et d'une manière assez régulière avec des parties moins sombres. Ces bandes latérales sont contiguës en certaines régions à des masses granulaires qui appartiennent également aux chromosomes. Malgré l'examen attentif de nombreuses coupes minces, il ne nous a pas été possible d'établir encore avec certitude la configuration du complexe axial en section transversale et par cela d'en donner une représentation spatiale.

Dans les spermatogonies le complexe axial des chromosomes se révèle sous des aspects très divers que l'on ne peut imputer à la qualité des clichés. De ce fait il est plus difficile d'en analyser les composants. Le plus fréquemment il apparaît constitué longitudi-

FIG. 2.

Le complexe axial de deux chromosomes spermatocytaires.
Gross.: 60.000 \times .

nalement par des formations linéaires minces, sombres et homogènes, que séparent des bandes plus claires dont la largeur varie entre 180 et 250 Å (fig. 4). Certaines de ces lignes sont disposées parallèlement entre elles; d'autres, groupées le plus souvent par

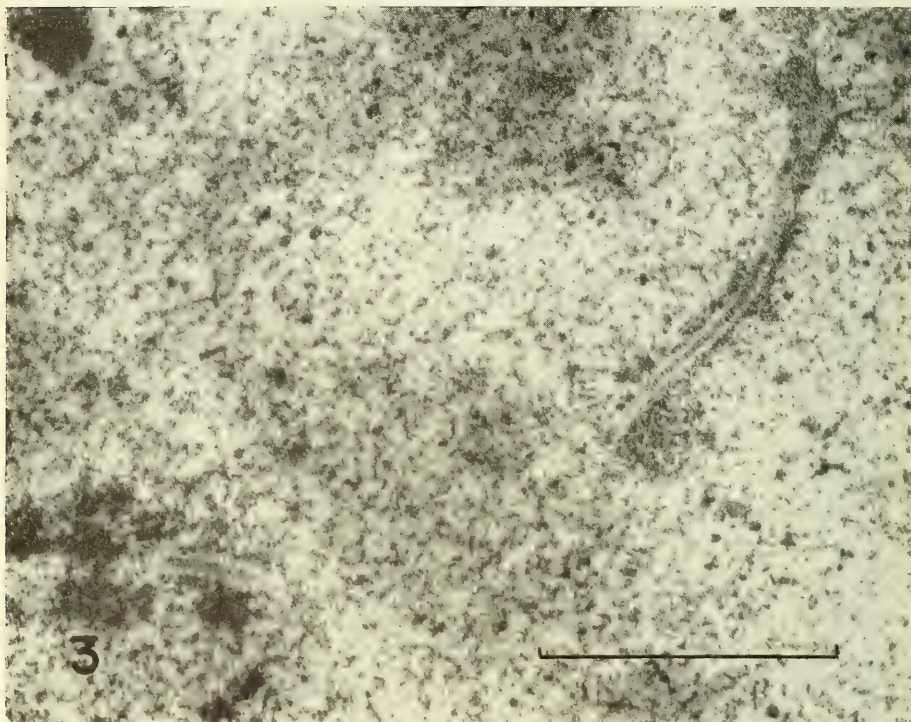


FIG. 3.

Le complexe axial de deux chromosomes spermatocytaires. Dans l'élément de droite, la bande médiane présente une configuration peu fréquente. Gross.: 40.000 \times .

paires, s'éloignent ou se rapprochent de la partie centrale, donnant à l'ensemble un aspect touffu qui rend impossible le dénombrement des constituants. Dans les régions les plus compactes le complexe peut atteindre une largeur de 1500 Å.

Nos observations sur le complexe axial des chromosomes spermatocytaires chez le *B. mucronata* concordent avec celles de MOSES (1956, 1958) chez le Crustacé *Cambarus clarkii*, l'Orthoptère

Melanoplus femurubrum et l'Urodèle *Plethodon cinereus*, et avec celles de FAWCETT (1956) chez le pigeon, le chat et l'homme. En effet, les quelques différences qui existent entre notre description et celles des auteurs américains proviennent vraisemblable-

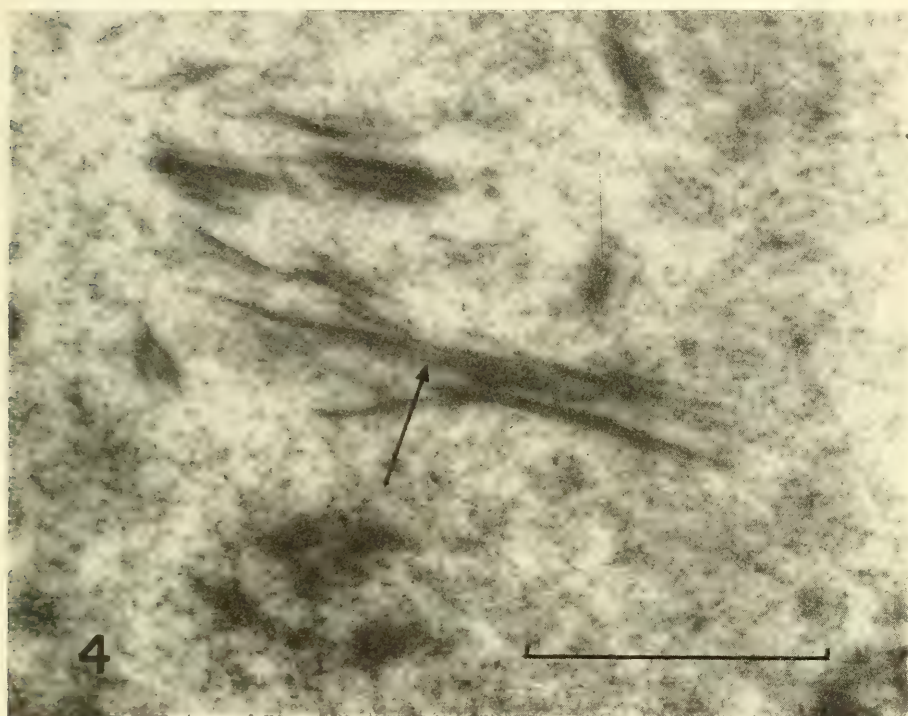


FIG. 4.

Le complexe axial d'un chromosome spermatogonial. Trois formations linéaires denses et parallèles sont indiquées par une flèche. Gross.: 40.000 ex.

ment de ce que l'identification précise de stades voisins dans la phase d'accroissement est malaisée sur coupe mince. Il se révèle donc avec plus de certitude que la partie centrale des chromosomes spermatocytaires soit une formation constante chez les Métazoaires. Nous avons montré de plus que l'ultrastructure du complexe spermatogonial n'est pas identique à celle des éléments de la prophase méiotique. Ce fait milite en faveur de l'hypothèse de MOSES (1958) pour qui le complexe axial spermatocytaire possède

des propriétés morphologiques particulières, concomitantes à l'appariement des chromosomes. Nous renonçons pour le moment à tout essai d'interprétation que rend prématuré l'état insuffisant de nos connaissances dans le domaine qui nous préoccupe.

AUTEURS CITÉS

- FAWCETT, D. W. 1956. *The fine structure of chromosomes in the meiotic prophase of vertebrate spermatocytes*. Journ. Biophysic. and Biochem. Cytol. 2: 403.
- MOSES, M. J. 1956. *Chromosomal structures in crayfish spermatocytes*. Journ. Biophysic. and Biochem. Cytol. 2: 215.
- 1956. *Studies on nuclei using correlated cytochemical, light and electron microscope techniques*. Journ. Biophysic. and Biochem. Cytol. 2: 397.
- 1958. *The relation between the axial complexe of meiotic prophase chromosomes and pairing in a salamander (Plethodon cinereus)*. Journ. Biophysic. and Biochem. Cytol. 4: 633.
- RYTER, A. et E. KELLENBERGER. 1958. *L'inclusion au polyester pour l'ultramicrotomie*. Journ. Ultrastructure Research 2: 200.

N^o 14. **E. Hadorn** und **I. Walker**, Zürich. — *Drosophila* und *Pseudeucoila*. I. Selektionsversuche zur Steigerung der Abwehrreaktion des Wirtes gegen den Parasiten ¹ (Mit 5 Textabbildungen.)

Zoologisch-vergl. anatomisches Institut der Universität Zürich.

EINLEITUNG

Die hier mitzuteilenden Ergebnisse von Selektionsversuchen schliessen an frühere Arbeiten unseres Institutes an. Zunächst wurde von JENNI (1951) untersucht, wie *Drosophila melanogaster* von der Schlupfwespe *Pseudeucoila bochei* parasitiert wird. Dabei zeigte sich, dass trotz häufiger Überinfektion sich in einem Wirtsorganismus nie mehr als eine Wespenlarve zur Imago entwickelt.

¹ Ausgeführt mit Unterstützung der Karl Hescheler-Stiftung.

SCHLEGEL-OPRECHT (1952) fand anschliessend, dass einzelne Wildstämme von *Drosophila* die Fähigkeit haben, die Wespenembryonen einzukapseln und damit unschädlich zu machen. Das Ausmass dieser Abwehrreaktion erwies sich als genetisch festgelegt, d. h. als eine stammesspezifische Eigenschaft. Die Ergebnisse von Kreuzungsversuche führten zur Annahme, dass die Abwehrfähigkeit polygenisch bestimmt sein müsse.

Die Abwehrreaktion geht von melanisierenden Lymphocyten aus. In vielen Fällen bleiben diese Zellen gruppenweise verklebt in der Körperhöhle liegen, ohne dass es zur Einkapselung des Parasiten kommt. Diese erfolglose Form der Abwehr bezeichnen wir als „Pigmentreaktion“. Eine erfolgreiche Abwehr ist nur dann verwirklicht, wenn die melanisierenden Blutzellen eine fest schliessende Kapsel um das Parasitenei herum bauen. Eine eingehende Analyse der an der Abwehrreaktion beteiligten Vorgänge wurde von WALKER (1959) durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass über Erfolg und Nichterfolg der Abwehr nicht nur der Genotypus des Wirtes, sondern auch der Genotypus des *Pseudeucoila*-Stammes entscheidet.

In der freien Natur kommen Wirt und Parasit nebeneinander vor. Offenbar stehen die Populationen der beiden Organismen in einem gewissen Gleichgewicht, das sich, wie wir jetzt wissen, durch genetische Faktoren des Wirtes wie des Parasiten nach der einen oder anderen Richtung verschieben kann. Sowohl die Abwehrfähigkeit des Wirtes wie die Angriffsfähigkeit des Parasiten dürfen als adaptive Eigenschaften aufgefasst werden, die durch Wirkungen der Selektion aufgebaut und verändert werden. Daher erschien es uns sinnvoll, zu versuchen, eine Steigerung der Abwehrreaktion von *Drosophila* durch ein geeignetes Selektionsexperiment im Laboratorium zu erreichen. Wird eine Fliegenpopulation von *Pseudeucoila* parasitiert, so können die einen Individuen den Wespenkeim erfolgreich abkapseln, während die anderen dem Parasiten erliegen. Genotypen mit schwacher oder fehlender Abwehrfähigkeit müssten bei genügend intensiver Parasitierung aus der Population verschwinden. Andererseits wäre zu erwarten, dass in einer Generationenfolge die Abwehrfähigkeit ansteigen würde, falls zur Weiterzucht nur solche Fliegen verwendet werden, die den Parasiten erfolgreich abgekapselt haben. Die vorliegende Mitteilung gibt die ersten Ergebnisse eines derartigen Selektionsversuches.

MATERIAL UND METHODE

Als Wildstamm von *Drosophila melanogaster* verwendeten wir Hindelbank (Hi; Bern, Schweiz) und Luxor (Lx; Aegypten). Für diese beiden Stämme ergaben sich extreme Unterschiede in der

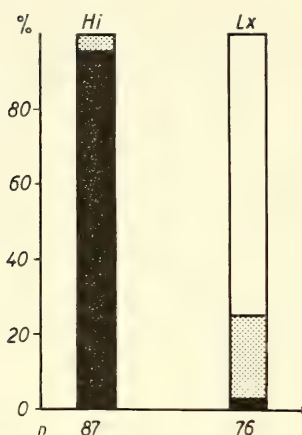


ABB. 1.

Reaktionsraten der Stämme Hindelbank (Hi) und Luxor (Lx). Leer: ohne Reaktion; punktiert: pigmentbildende Larven; ausgefüllt: kapselbildende Larven. n: Anzahl der untersuchten parasitierten Larven.

Abwehrfähigkeit gegen *Pseudeucoila bochei* (WALKER, 1959). Ein typisches Versuchsergebnis ist in Abbildung 1 dargestellt. Ferner wurden die Hybriden der beiden reziproken Kreuzungen ($Hi \times Lx$ und $Lx \times Hi$) in die Selektionsversuche einbezogen. Zur Parasitierung benutzten wir ausschliesslich die Wespen des Wildstammes Erlenbach (E), der gegen Kapselbildung nicht resistent ist.

Für die Selektionsexperimente standen somit die vier Linien Hi; Lx; $Hi \times Lx$ und $Lx \times Hi$ zur Verfügung. Von jeder Linie wurden drei Unter-Linien getrennt geführt. Die Untersuchung erstreckte sich über 12 Selektionsgenerationen (Dezember 1958 bis August 1959). Von jeder Unterlinie und in jeder Generation wurden 150 Larven des mittleren 2. Stadiums während 1—3 Stunden

einer Gruppe von 10—20 Wespen zur Parasitierung überlassen. Bis zur Infektion hielten wir die Larven bei 25° C; nachher bei 20° C, da diese Temperatur für eine erfolgreiche Kapselbildung optimal ist (WALKER, 1959). Von jeder parasitierten Kultur seziierten wir 30 Puppen, um an dieser Stichprobe den Parasitierungsgrad festzustellen (z. B. 25/30). Wir erhalten so für jede Linie und jede Generation eine Information, die sich auf 90 Individuen stützt. Sind die Puppen infiziert, so ergeben sich vier Kategorien (Abb. 2): 1. Wirte ohne irgendwelche Reaktion auf den anwesenden Parasiten, der um diese Zeit als kleine Larve inmitten der *Drosophila*-Puppe gefunden wird. 2. Wirte, die zwar Pigment,

aber daraus keine Kapseln bilden. 3. Wirte, die Kapseln bilden, aber trotzdem nicht erfolgreich sind, entweder weil bei Überinfektion nicht alle Parasiten eingekapselt sind, oder weil es einem Parasiten gelingt, sich aus der Kapsel herauszuarbeiten (leere Kapseln). 4. Wirte, die einen oder mehrere Parasiten erfolgreich einkapseln und sich daher trotz Infektion zu normalen Fliegen entwickeln.

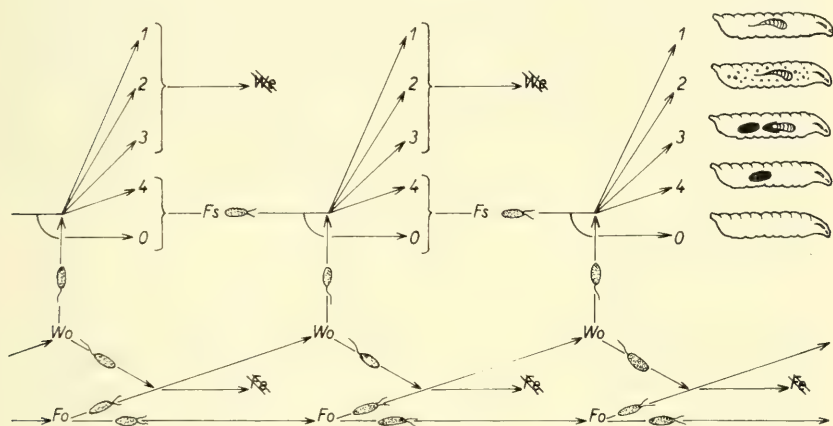


Abb. 2.

Schema der Zucht- und Selektionsmethode. Fo = Fliegen ohne Selektion; Fe (durchgestrichen) = eliminierte Fliegen aus den Stammzuchten der Wespen; Fs = Fliegen unter Selektion; Wo = Wespen ohne Selektion; We (durchgestrichen) = eliminierte Wespen aus Fs-Zuchten. Reaktionsstufen der parasitierten *Drosophila*-Larven (rechts aussen): 1 = keine Reaktion, 2 = nur Pigment, 3 = nicht erfolgreiche Kapseln, 4 = erfolgreiche Kapselbildung, 0 = nicht parasitierte Larven aus infizierten Kulturen. Eier von *Drosophila* mit zwei Filamenten, von *Pseudeucoila* mit einem Filament.

Auf Grund dieser vier Klassen werden folgende Größen definiert: Kapselrate = % Wirtslarven, die Kapseln bilden; Pigmentrate = % Wirtslarven, die nur Pigment bilden; Kapselrate plus Pigmentrate wurden zur Gesamtrate zusammengefasst. Da meist ein Teil der Wirtslarven mit mehreren Parasiteneiern belegt ist, ergibt sich als Mass der Überinfektion die Anzahl der Parasiten pro infizierte Wirtslarven (z. B. 35/25).

Die Anzahl der geschlüpften Fliegen und Wespen einer Unterlinie ergibt die Gesamtschlüpftrate. Falls jede angesetzte *Drosophilalarve* entweder eine Fliege oder eine Wespe liefern würde,

so müssten pro Unterlinie (Zuchtschale) 120 Imagines schlüpfen. Die Gesamtschlüpftrate (z. B. 100/120) ist somit ein Mass für die Güte der Zuchtbedingungen bzw. die Vitalität der *Drosophilalinie* oder des Wespenstammes. Dabei ist zu unterscheiden zwischen dem Anteil der Fliegen und dem Anteil der Wespen an der Gesamtrate.

In der Abbildung 2 ist das Zuchtverfahren dargestellt. Die zur Infektion verwendeten Wespen (Wo) wurden in üblicher Weise gezüchtet und zwar auf dem schwach reaktionsfähigen Fliegenstamm Luxor (Fo), der unter keinem Selektionsdruck stehen konnte, da nie mehr als eine Fliegengeneration parasitiert wurde. Die „erfolgreichen“ Fliegen aus infizierten Kulturen wurden nie zur Weiterzucht verwendet (Fe; durchgestrichen). Ebenfalls benutzten wir niemals „erfolgreiche Wespen“ (We, durchgestrichen), die aus Fliegenpuparien der Selektionslinie schlüpften.

Wie die Abbildung 2 zeigt, stammen die Fliegen der Selektionslinie (Fs) entweder aus Larven, die den Parasiten erfolgreich ein-kapseln konnten (4) oder aus Larven, die aus irgendwelchen Gründen von den Wespen nicht infiziert wurden (0). Eine direkte Zuteilung der geschlüpften Fliegen zur Kategorie 4 bzw. 0 ist nicht möglich. Doch können wir auf Grund der Sektionskontrolle extrapolierend den Anteil der „erfolgreichen Fliegen trotz Infektion“ nach folgender Formel abschätzen: Erfolgreiche „parasitierte“ Fliegen = Total der Fliegen — $(1 - \text{Parasitierungsgrad}) \times \text{Total der (Fliegen + Wespen)}$. Beispiel: Eine parasitierte Zuchtschale liefert aus 120 Larven 20 Wespen und 80 Fliegen. In der Stichprobe wurde ein Parasitierungsgrad von 24/30 gefunden; daher erfolgreiche parasitierte Fliegen = $80 - (1 - 24/30) \cdot 100 = 80 - 0.2 \cdot 100 = 60$. Da Fliegen aus parasitierten und nicht parasitierten Larven nicht zu unterscheiden sind, wurden alle geschlüpften Fliegen einer Zuchtschale (im Beispiel 80 Individuen) für die Eiablage der nächsten Generation verwendet (Fs in Abb. 2). Von ihren Nachkommen wurden wiederum 150 Larven in eine Schale übertragen und von neuem der Parasitierung durch Wo-Wespen ausgesetzt.

Um einen allfälligen Selektionserfolg sicherstellen zu können, war es nötig, geeignete Kontrollen zu führen: Vor Beginn des Selektionsexperimentes wurde daher von den vier Linien je eine Kontrolllinie abgezweigt, die ohne Parasitierung parallel zu den

12 Selektionsgenerationen geführt wurde. Von der 6. Generation an wurde in frei gewählten Abständen die Abwehrreaktion dieser Kontrollen geprüft; dabei verwendeten wir pro Stichprobe wiederum 150 Larven, von denen 30 seziert wurden.

Da sich in den Selektionslinien im Verlaufe des Experimentes ein Vitalitätsabfall geltend machte, wurde zwischen der 11. und 12. Selektion während zweier Generationen mit der Infektion ausgesetzt. Die 12. Selektionsgeneration (Abb. 3—5) entspricht daher der 14. Zuchtgeneration. Für den Abschluss des Experimentes (11. und 12. Selektionsgeneration) unterteilen wir die drei Unterlinien nochmals in zwei Zweige. Die Zahlenwerte beziehen sich daher hier auf je 300 Larven pro Linie, wobei die Selektionskontrolle an je 60 Individuen durchgeführt wurde.

ERGEBNISSE

Da sich zwischen den drei Unterlinien einer Selektionslinie keine wesentlichen Unterschiede zeigten, sind nachfolgend ihre Zahlenwerte zusammengefasst.

Betrachten wir zuerst das Verhalten der Gesamtrate (entweder nur Pigment oder Pigment- und Kapselbildung (Abb. 3). Bei Hi reagieren während der ganzen Selektionsdauer fast stets alle Individuen. Einzig in der 4. Generation zeigt sich ein bedeutungsloser leichter Abfall. Sämtliche Kontrollen zeigten ebenfalls eine Rate von 100% (in Abb. 3 nicht eingetragen).

Für Lx wurde in der ersten Selektionsgeneration der stammesspezifische Wert von 25% festgestellt (vergl. Abb. 1). Unter den Versuchsbedingungen steigt die Rate rasch bis auf eine Höhe von 67—83% an. Für die Kontrollkulturen fanden wir dagegen deutlich tiefere Werte (zwischen 50 und 60%). Warum diese Kontrollen ihre Reaktionsfähigkeit gegenüber der Ausgangslage (25%) so sehr verbessern konnten, bleibt ungeklärt. Für die beiden Bastardlinien lässt sich ein sehr klarer Selektionserfolg nachweisen. Der hohe Wert in der 1. Generation dürfte auf der teilweisen Dominanz von Hi-Genen beruhen (vergl. SCHLEGEL-OPRECHT, 1954). Von der 2. Generation an liegen die Werte deutlich tiefer; jetzt mendeln auch wieder Lx-ähnliche Genotypen heraus. Die Bastarde liegen daher zwischen den Elterngenotypen. Mit fortschreitender Selektion steigt die Abwehrfähigkeit annähernd bis zur Höhe des Hi-

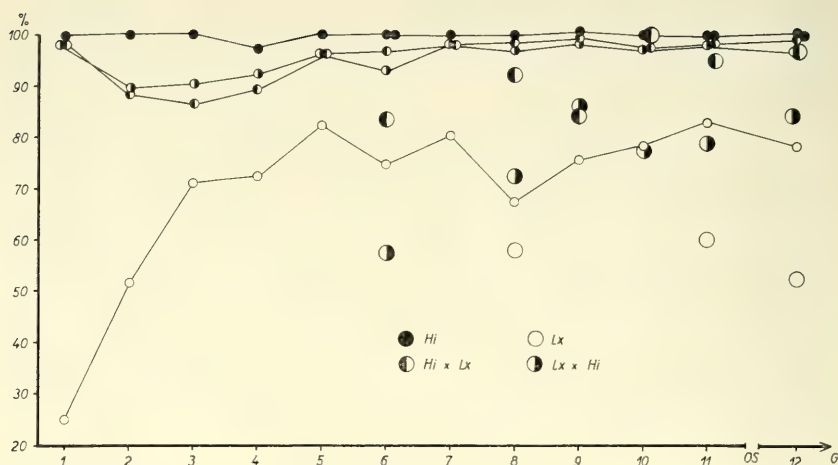


ABB. 3.

Gesamtraten der Reaktion (in %) der *Drosophila*-Stämme Hindelbank (Hi) und Luxor (Lx), sowie der reziproken Bastarde Hi \times Lx und Lx \times Hi. Grosse Einzelkreise bezeichnen die Reaktionsrate von den nicht unter Selektion stehenden Kontroll-Larven. Auf der Abszisse sind die Generationen (1-12 G) aufgetragen. OS = zwei Generationen ohne Selektion gezüchtet.

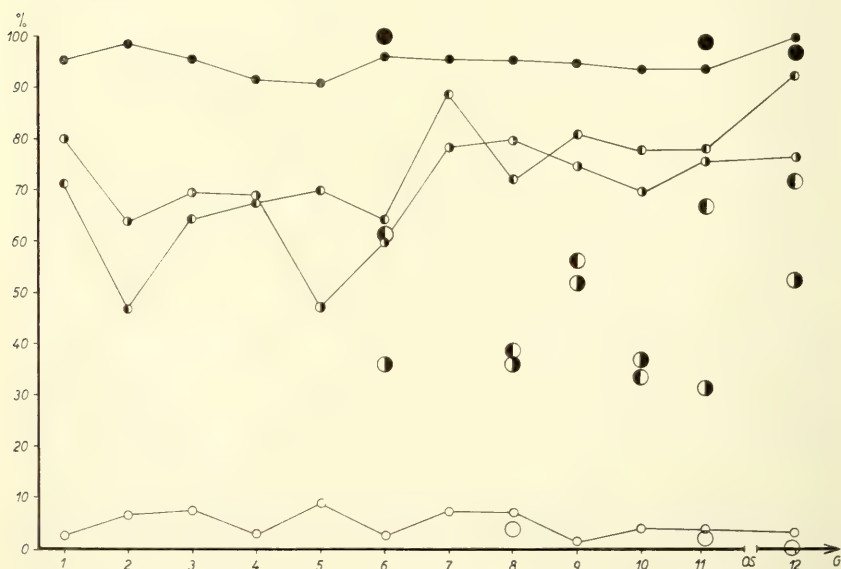


ABB. 4.

Kapselrate (in %). Darstellung und Symbole wie in Abb. 3.

Stammes an. Mit wenig Ausnahmen liegen die Kontrollwerte deutlich bis sehr weit unter den Werten der Selektionszuchten. Offensichtlich führte die Selektion zur Elimination von Lx-Genen.

Die Ergebnisse des Selektionsexperimentes in bezug auf die Kapselraten sind in Abb. 4 dargestellt. Der Hi-Stamm konnte, wie erwartet, kaum beeinflusst werden. Während der ganzen Beobachtungsdauer finden wir bei 90—100% der *Drosophilalarven* eine oder mehrere Kapseln.

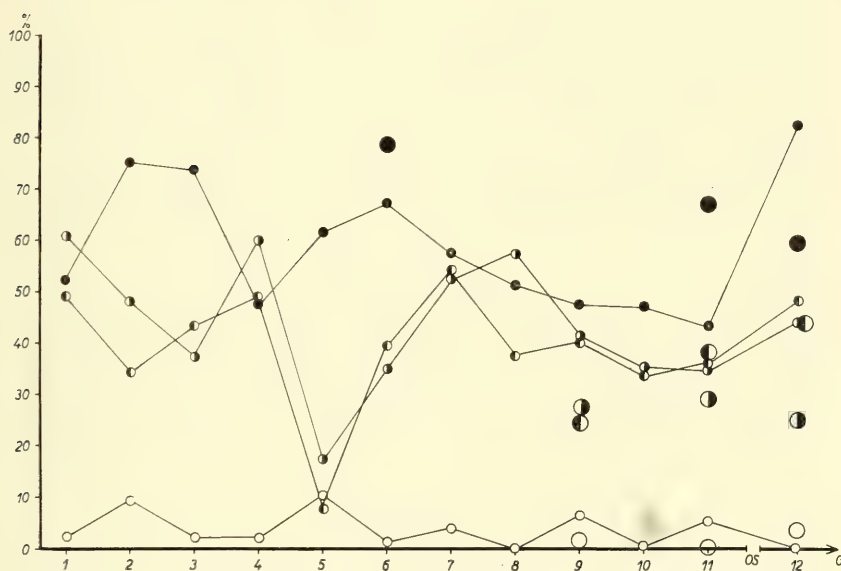


Abb. 5.

Erfolgreiche parasitierte Wirte in % aller parasitierten geschlüpften Fliegen und Wespen. Darstellung und Symbole wie in Abb. 3.

Bei Lx gelang es nicht, die Kapselrate zu steigern. In keiner Generation zeigten mehr als 10% der Larven diese Abwehrleistung. Da hier die Selektion wirkungslos blieb, muss man annehmen, dass für den Lx-Genetypus keine Möglichkeit besteht, bereits vorhandene „Gene für Kapselbildung“ im Verlaufe von 12 Generationen anzureichern.

Eindeutige Selektionserfolge stellten sich dagegen für die beiden Bastardlinien ein. Wegen der Dominanz der Hi-Faktoren finden wir in der 1. Generation noch eine relativ hohe Kapselrate. Sie

sinkt dann von der 2.—6. Generation auf 60—70% ab. Dann erfolgt ein gut gesicherter Anstieg auf 72—92%. Dieses erhöhte Niveau wird von den Kontrollen, die zwischen 31% und 72% variieren, bei weitem nicht erreicht. Dieser Befund wird darauf beruhen, dass aus dem „Genpool“ der Bastarde sich die Hi-Faktoren auf Kosten der Lx-Faktoren anreichern konnten.

Falls eine Fliegenlinie unter dem Selektionsdruck einer andauernden Parasitierung ihre Abwehrkraft erfolgreich erhöht, so müssten aus einer gegebenen Anzahl parasitierter Larven zunehmend mehr Fliegen und weniger Wespen schlüpfen. In der Abbildung 5 sind die diesbezüglichen Werte für die Fliegenschlüpfrate eingetragen. Wir haben dabei den Anteil der erfolgreichen Fliegen, die sich trotz Parasitierung entwickeln konnten, nach der auf S. 220 angegebenen Methode, d. h. unter Berücksichtigung des Parasitierungsgrades der Einzelkulturen berechnet.

Die Hi-Linien beginnen in der ersten Generation mit einem relativ tiefen Wert (um 50%). Dies beruht auf einer starken Überinfektion. In solchen Fällen können bei einem reaktionsstarken Fliegenstamm zwar fast alle paratisierten Larven eine oder mehrere Kapseln bilden, doch gelingt es ihnen selten, alle Parasiten erfolgreich einzuschliessen. Dann wird anstelle einer „erfolgreichen Fliege“ eine Wespe schlüpfen. Von der 2. bis zur 11. Selektionsgeneration zeigt sich eine abfallende Tendenz. Eine eingehende statistische Analyse dieser Befunde steht noch aus. Wahrscheinlich hat die zunehmende Inzucht in der Selektionslinie zu einer Abnahme der Vitalität und damit der Schlüpfrate der Fliegen geführt. Für diese Interpretation spricht die Tatsache, dass die in Massenkulturen geführten Kontrollen (Generationen 6, 11) mehr erfolgreiche Fliegen liefern als die Selektionslinie. Da zwischen der 11. und 12. Selektionsgeneration nicht parasitierte Massenzuchten eingeschoben wurden, konnte sich offensichtlich auch der Selektionsstamm erholen.

Die beiden reziproken Bastardlinien verhalten sich weitgehend gleich. Das sehr starke Absinken der Fliegenschlüpfrate in der 5. Generation ist durch eine massive Überinfektion verursacht. Obschon die Kurven der Selektionslinien (9.—12. Generation) teilweise über den Kontrollen stehen, möchten wir vorläufig noch nicht auf einen Selektionserfolg schliessen. Eine Analyse dieser Daten soll einer weiteren Arbeit vorbehalten sein.

Für den Lx-Stamm konnte kein Anstieg der Schlüßrate erwartet werden, weil auch die Kapselrate (Abb. 4) nicht verbessert wurde.

Summary.

1. By a specially designed experiment we tried to improve the defense reaction of *Drosophila melanogaster* against parasitism by the wasp *Pseudeucoila bochei*.

2. The following wild stocks of *Drosophila* were used: *a*) Hindelbank (Hi), which has a strong defense reaction, *b*) Luxor (Lx), very weak reaction, *c*) and *d*) the reciprocal hybrids $Hi \times Lx$ and $Lx \times Hi$.

3. In Lx as well as in the two hybrid lines selection over 12 generations increased the formation of dispersed melanised lymphocytes ("pigment reaction").

4. In the hybrid genotypes selection also led to an increase in the percentage of individuals in which the blood cells form protective capsules around the egg of the parasite.

5. Data are given for the number of "successful flies" which hatch in the different selected lines from parasitized *Drosophila* larvae.

LITERATUR

- JENNI, W. 1951. *Beitrag zur Morphologie und Biologie der Cynipide Pseudeucoila bochei* Weld, eines Larvenparasiten von *Drosophila melanogaster* Meig. Acta zool. 32: 177-254.
- SCHLEGEL-OPRECHT, E. 1953. *Versuche zur Auslösung von Mutationen bei der zoophagen Cynipide Pseudeucoila bochei* Weld und Befunde über die stammspezifische Abwehrreaktion des Wirtes *Drosophila melanogaster*. Z. Vererbungslehre 85: 245-281.
- WALKER, I. 1959. *Die Abwehrreaktion des Wirtes Drosophila melanogaster gegen die zoophage Cynipide Pseudeucoila bochei* Weld. Rev. Suisse de Zool. 66: 569-632.
-

N^o 15. **Hans-Rudolf Haefelfinger.** — Neue und wenig bekannte Opisthobranchier der Gattungen *Trapania* und *Caloria* aus der Bucht von Villefranche-sur-Mer (A.-M.)¹ (Mit 8 Textabbildungen.)

Zoologische Anstalt der Universität Basel und Station zoologique de Villefranche-sur-Mer (A. M.).

Die Opisthobranchier der Bucht von Villefranche sind seit einigen Jahren ein zentrales Forschungsproblem der Zoologischen Anstalt Basel. Neben ökologischen und fortpflanzungsbiologischen Studien wurde auch der Systematik eingehende Beachtung geschenkt. Das umfangreiche Material enthält mehrere unbeschriebene Formen aus verschiedenen Gattungen.

Im neuesten Bestimmungswerk (*Faune de France*) wird für die europäische Region nur eine Trapanide, nämlich *Trapania fusca* (Lafont) angeführt. Verschiedene Funde in der Bucht von Villefranche liessen erkennen, dass die Familie *Trapania* mindestens um zwei neue Arten bereichert werden kann.

Trapania maculata (n. sp.)

Im Juni 1957 und Mai 1958 wurde je ein Exemplar eines unbekannten Opisthobranchiers gefunden; beide stammten aus den Posidonienwiesen zwischen 5 und 20 m Tiefe. Bestimmungsversuche zeigten, dass es sich sicher um Schnecken der Familie *Trapania* handelt, die Art konnte jedoch nicht bestimmt werden. (Abb. 1.)

Beschreibung:

Körperform: langgestreckt, schlank bis zu 15 mm Länge. Je zwei grosse Labial- und Stirntentakel. Rhinophoren relativ gross, nicht retraktil, Keule mit Lamellen (rund 10 Blätter) und Endknospe. (Abb. 2d und 2e). An der Basis-Aussenseite der Rhino-

¹ Die Untersuchungen konnten mit Unterstützung des schweizerischen Nationalfonds für wissenschaftliche Forschung durchgeführt werden.

phoren ein nach hinten gerichteter Anhang. Jederseits der aus drei gefiederten Blättern bestehenden Kiemengruppe ebenfalls ein nach hinten gerichteter Anhang. Mittleres Kiemenblatt etwas grösser als die seitlichen. Fuss schmal, vorne zu zwei dreieckigen Zipfeln ausgezogen.

Färbung: weisslich opak, die Eingeweide gelblich durchschimmernd. Die Lippen- und Stirntentakel, die Keule der Rhinophoren, sowie die seitlichen Anhänge orangegelb (C.d.C. No. 196, gelegentlich No. 211) gefärbt. Auf den Kiemen ebenfalls gelbe Flecken. Augen auf der Basis-Innenseite der Rhinophoren schwarz durchschimmernd.

Zeichnungsmuster: Das 15 mm lange Exemplar zeigt eine orangegelbe Musterung (Abb. 1). Von der Stirn her zieht ein Streifen bis zu den Rhinophoren. Seitlich der Medianen, in der Mitte zwischen Rhinophoren und Kiemen, je ein gelber Fleck, ebenso ein einzelner direkt vor den Kiemen. Hinter den Kiemen beginnt auf der Mittellinie wiederum ein Streifen, der sich caudal allmählich über die ganze Schwanzspitze ausdehnt. Auf den Flanken eine unregelmässige Fleckung. Ein schwanzloses Exemplar von 12 mm Länge dürfte in unbeschädigtem Zustand 17—20 mm gemessen haben. Die Grundzüge der Musterung sind die gleichen, hingegen zieht von der Stirn bis zu den Kiemen

eine ununterbrochene Linie, die sich vor den Kiemen gabelt und direkt in die beiden seitlichen Anhänge übergeht. Diese Musterung dürfte einer späteren Altersphase entsprechen (Abb. 6a).

Radula: Formel I, O, I. Sie besteht aus 15 Zahnreihen. Der Zahn selbst ist sägeblattartig. Von innen nach aussen finden sich zwei kleine, ein mittelgrosser nach aussen gekrümmter, fünf



Abb. 1.
Trapania maculata
(15 mm lang).

kleine, ein grosser und wiederum ein kleiner Dentikel (Abb. 2a und 2b).

Kiefer: echte Kiefer fehlen. An deren Stelle finden wir Lippenplatten mit gezähntem Rand und eigenartig gefurchter Oberfläche (Abb. 2c).

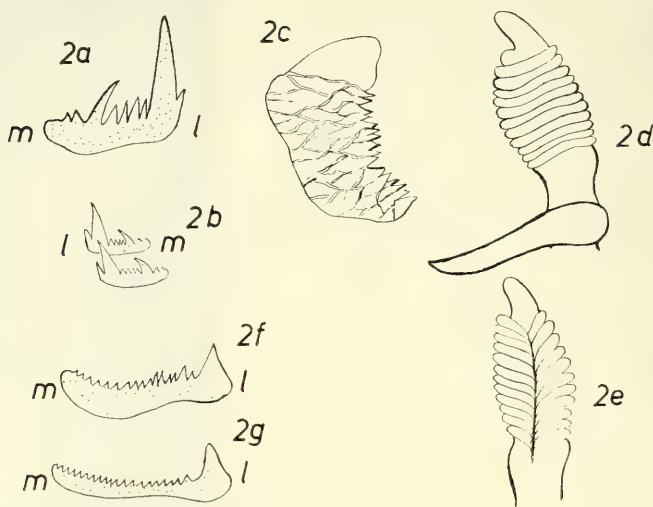


ABB. 2.

Detailzeichnungen zu *Trapania maculata*. a) Radulazahn rechts; b) Radulazähne links aus der Radulascheide; c) Lippenplatte; d) rechter Rhinophor Seitenansicht; e) rechter Rhinophor Hinteransicht (alle Darstellungen nach einem 17 mm langen Exemplar); f) Radularzahn von *Trapania fusca* (nach BERGH); g) Radulazahn von *Trapania tartanella* (nach von IHERING). m = median, l = lateral.

Geschlechtsporus: auf der rechten Körperseite unterhalb der Rhinophoren gelegen. Die Penisbewaffnung besteht aus kleinen einfachen Haken.

Gelege: unregelmässig spiralig aufgerolltes Band von 1,2 mm Breite und 70 mm Länge, hochkant auf der Unterlage festgeklebt (Abb. 3). Die Eier sind weiss, die einhüllende Gallertschicht farblos. Der Durchmesser der Eier beträgt rund 0,14 mm. Pro Quadratmillimeter finden sich um 60 Eier, das heisst im ganzen Gelege rund 4000 Eier. Sie liegen schnurartig hintereinander wobei diese Schnur spiralig im Band aufgerollt ist. Die Entwicklungsdauer konnte ich nicht feststellen.

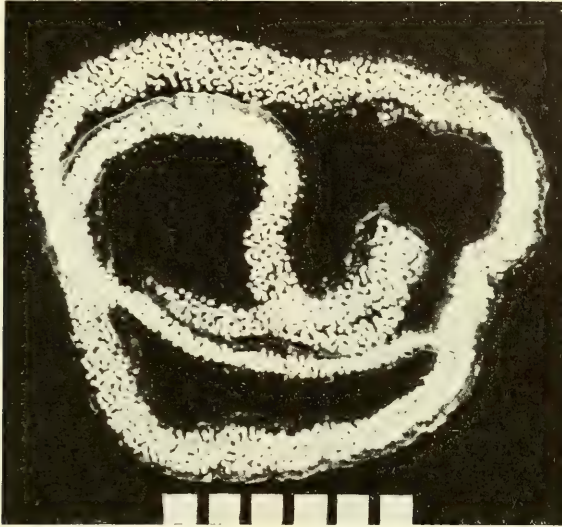


ABB. 3.

Gelege von *Trapania maculata* (ein Teilstrich = 1 mm).

Hauteinlagerungen: Der seziierte und untersuchte Paratypus war in Bouin fixiert. Die Kalknadeln waren aus diesem Grunde aufgelöst. Wahrscheinlich sind einfache Kalkspikeln, wie bei andern Trapaniden vorhanden.

Beobachtungen am lebenden Tier: Das 12 mm lange Exemplar konnte ich in lebendem Zustand nicht beobachten. Das 15 mm lange Tier hielt ich während 2 Tagen im Aquarium. Nach 14 Stunden wurde das obenerwähnte Gelege auf dem Boden des Aquariums abgelegt. Die Bewegungen des Tieres sind relativ rasch, Tentakel, und Rhinophoren werden ständig bewegt, die Anhänge hingegen bleiben in Ruhe. Kontraktionen des Körpers konnten nur sehr selten beobachtet werden.

Der Name „*maculata*“ nimmt Bezug auf die Fleckung des Rückens und der Flanken.

Standort des Holotypus: Nat. Hist. Museum Basel (No. 6235-a).

Trapania Lineata (n. sp.).

Eine zweite *Trapania*-Art wurde seit 1956 in mehreren Exemplaren gefangen. Eingehende Nachforschungen haben ergeben, dass

es sich auch bei dieser Form um eine neue Art handeln muss (Abb. 4a).

Beschreibung:

Körperform: langgestreckt schmal, bis zu 20 mm Länge. Je zwei grosse Labial- und Stirntentakel. Rhinophoren gross, nicht retraktil. Keule mit Lamellen (bis 12 Blätter) und Endknopf (Abb. 5c). An der Basis-Aussenseite der Rhinophoren ein nach hinten gerichteter Anhang. Jederseits der aus drei gefiederten Blättern bestehenden Kiemengruppe ein nach hinten gerichteter Anhang. Mittleres Kiemenblatt grösser als die beiden seitlichen. Fuss schmal, nach vorne zu zwei dreieckigen Zipfeln ausgezogen.

Färbung: weisslich transparent bis zu hellrot (C.d.C. No. 194). Eingeweide gelblich durchschimmernd. Die Spitzen der Tentakel, Rhinophoren, seitlichen Anhänge und Kiemen orangegelb (C.d.C. No. 211) gefärbt, ebenso die Schwanzspitze. Augen auf der Basis-Innenseite der Rhinophoren als schwarze Punkte durchschimmernd.

Zeichnungsmuster: ein unregelmässiges opak-weisses, leicht irisierendes Liniensystem überzieht den ganzen Körper (Abb. 4a und 6c). Als gesetzmässig sind nur folgende Einzelheiten festzustellen: von dem Stirntentakeln zieht je eine Linie zur Stirnmitte. Sie vereinigen sich, laufen über den Kopf bis zu den Rhinophoren, teilen sich wieder und ziehen über die Rhinophorenbasis bis zu den Keulen. Alle seitlichen Anhänge (neben Rhinophoren und Kiemen) weisen immer ein bis zwei Linien auf, ebenso jedes Kiemenblatt. Über den Schwanz hin zieht eine mediane Linie.

Radula: Formel I, O, I. Die Radula besteht aus 12—20 Zahnreihen. Der einzelne Zahn ist sägeblattartig, von innen nach aussen finden sich 7 kleine, ein grosser und zwei kleine Dentikel (Abb. 5a).

Kiefer: echte Kiefer fehlen, an deren Stelle finden wir Lippenplatten mit gezähntem Rand und eigenartig gefurchter Oberfläche (Abb. 5b).

Geschlechtsporus: auf der rechten Körperseite unter den Rhinophoren. Penisbewaffnung aus kleinen einfachen Haken bestehend.

Hauteinlagerungen: Mit Ausnahme eines einzigen Exemplares wurden alle Schnecken in Bouin fixiert, dabei wurden die Kalk-

nadeln herausgelöst. Wie bei andern Trapaniden sind wahrscheinlich einfache Kalkspikeln vorhanden.

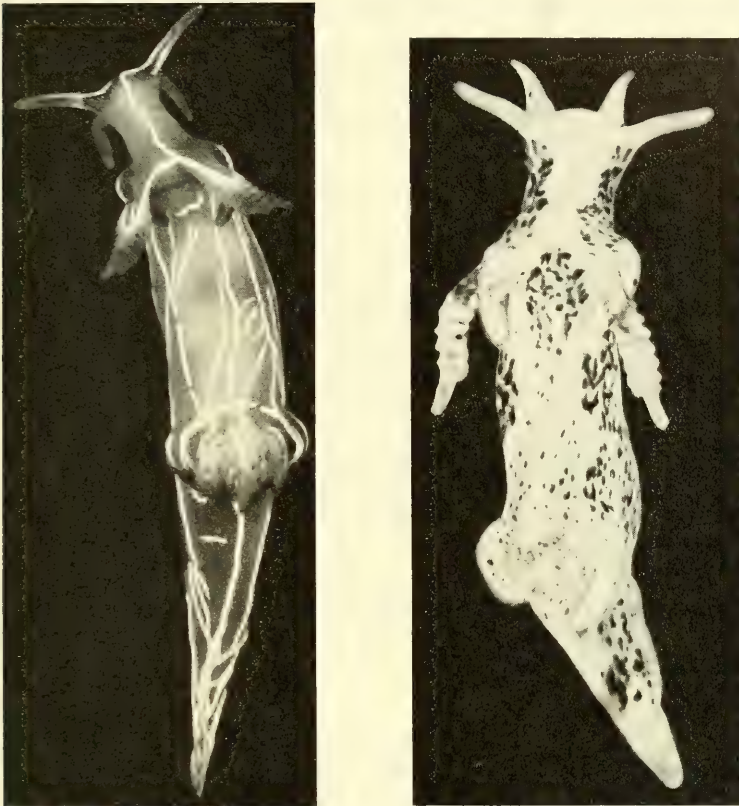


Abb. 4.

a) *Trapania lineata* (19 mm lang) b) *Trapania fusca* (5 mm lang).

Beobachtungen am lebenden Tier: *Trapania lineata* liess sich während einiger Tage im Aquarium halten. Die Kriechbewegungen sind ziemlich rasch. In Ruhe ist eine Kontraktion des Körpers kaum zu beobachten. Tentakel und Rhinophoren werden ständig bewegt. Kopulationen und Eiablagen konnten nicht beobachtet werden.

Standort des Holotypus: Nat. Hist. Museum Basel (No. 6236-a).

Der Name *lineata* nimmt Bezug auf die weisse Linienzeichnung der Körperoberfläche.

DISKUSSION

ÜBER *Trapania maculata* UND *Trapania lineata*.

Im Jahre 1886 beschrieb VON IHERING eine Trapanide unter dem Namen *Trapania tartanella*. Sein einziges Exemplar von 7 mm Länge stammte aus der Umgebung von Neapel. Der Körper der Schnecke war weisslich opak, die Labial-und Stirntentakel, die Keulen der Rhinophoren, die Kiemen, die seitlichen Anhänge und



ABB. 5.

Detailzeichnungen zu *Trapania lineata*. a) Radulazähne rechts; b) Lippenplatte; c) linker Rhinophor Vorderansicht (alle Darstellungen nach einem Exemplar von 19 mm Länge).

die Schwanzspitze orangegelb gefärbt. Diese Art weist starke Ähnlichkeit mit den beiden neuen Trapaniden auf. In der Faune de France (Mollusques Opisthobranches) ist *Trapania tartanella* allerdings als selbständige Art nicht mehr anerkannt, sondern wird als Jugendform von *Trapania fusca* angesehen. Diese Aussage muss jedoch stark angezweifelt werden. Eine grosse Zahl *Trapania fusca*, welche in der Bucht von Villefranche gefangen wurde zeigte nämlich schon in den frühesten Stadien eine typische braun bis schwarze Tüpfung des Körpers (Abb. 4b), zudem waren Rhinophoren, Tentakel und Kiemen nur in den seltensten Fällen gelb gefärbt; dabei handelte es sich nie um orangegelbe, sondern höchstens um schwefelgelbe Tönung. Die Körperform von *Trapania fusca* ist auch durchwegs gedrungener als jene der anderen Trapaniden (Abb. 6b). Die farbige Darstellung von *Trapania tartanella* in VON IHERINGS Beschreibung zeigt eindeutig, dass es

sich nicht um eine Jugendform von *Trapania fusca* handeln kann. Einzig die Radulae der beiden Formen weisen eine gewisse Ähnlichkeit auf. Vergleichen wir nämlich die Radulazähne der vier *Trapania*-niden miteinander, so zeigt es sich deutlich, dass *Trapania maculata* und *lineata* einander sehr nahestehen und sich stark von *Trapania fusca* unterscheiden; eine Mittelstellung nimmt *Trapania tartanella* ein. Die Radulazähne der beiden ersten Formen sind

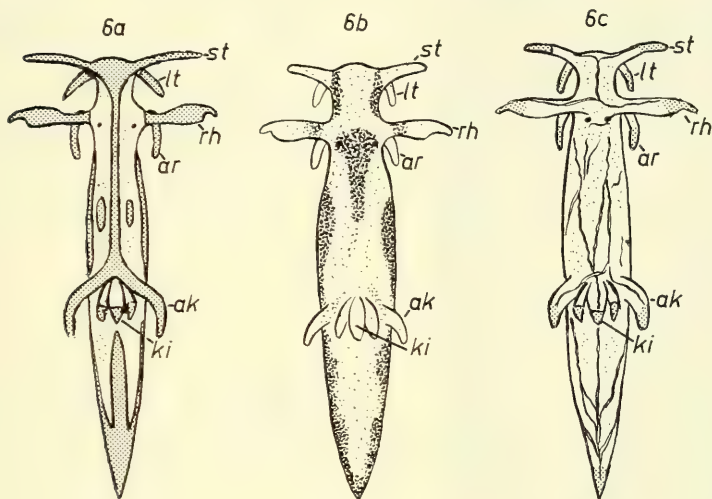


ABB. 6.

Schematische Darstellung der Zeichnungsmuster. a) *Trapania maculata*; b) *Trapania fusca*; c) *Trapania lineata*. ar = seitlicher Anhang des Rhinophoren. ak = seitlicher Anhang der Kiemen. St = Stirntentakel. lt = Labialtentakel. rh = Rhinophor. ki = Kiemen.

verhältnismässig klein (um 10 Dentikel), wir finden von median nach lateral 6—8 verschieden grosse Nebendentikel, dann einen grossen Lateral- und abschliessend nochmals 1—2 Nebendentikel. *Trapania fusca* zeigt 15—20 annähernd gleichgrosse Nebendentikel und einen grossen Lateral- und abschliessend nochmals 1—2 Nebendentikel (Abb. 2f), während *Trapania tartanella* rund 15 in der Grösse schwach verschiedene Nebendentikel und einen grossen lateralen Enddentikel aufweist (Abb. 2g). Die Lippenplatten sind sich alle ziemlich ähnlich, die gefurchte Oberfläche ist bei allen vier Formen gleich ausgebildet. Auch dem Habitus nach gehören die beiden neuen Tra-

paniden eng zusammen, das Zeichnungsmuster ist in verschiedenen Grössenstadien dermassen konstant und typisch, dass eine Verwechslung oder eine Klassierung als Jugendform von *Trapania fusca* ausgeschlossen ist, umso mehr, als einige Exemplare der

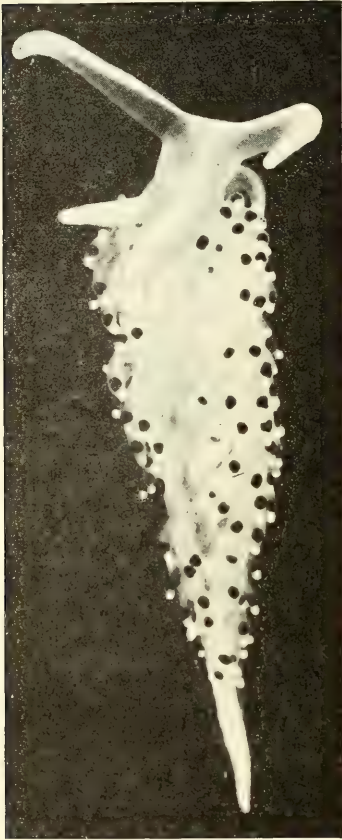


Abb. 7.

Caloria maculata (12 mm lang).

neuen Formen das Normalmass von „fusca“ bei weitem überschreiten. Obwohl bei *Trapania tartanella* ein Zeichnungsmuster fehlt, steht sie sicher den neuen Trapaniden näher. Ihre Klassierung als selbständige Art lässt sich auf alle Fälle rechtfertigen, so dass also die europäische Trapaniden-Familie vier verschiedene Arten aufweist, nämlich *Trapania fusca*, *maculata*, *lineata* und *tartanella*.

Caloria maculata TRINCHESE

Im Jahre 1888 beschrieb TRINCHESE unter dem Namen *Caloria maculata* eine neue Äolidier-Art. Seine Diagnose ist eindeutig, doch unterliess er es neben den vielen Detailzeichnungen ein Habitusbild der Form zu geben. Diese Unterlassung hatte zur Folge, dass heute eine andere Art unter dem Namen *Caloria maculata* bekannt ist. Diese „Pseudo-*Caloria*“ wurde sowohl in Villefranche als auch in Banyuls und Neapel mehrmals gefunden, ja sie ist sogar am ersten Fundort

recht häufig. (Auf *Eudendrium ramosum*). Der Zufall wollte es, dass im Oktober und November 1958, sowie im April 1959 je ein Exemplar einer *Caloria* gefunden wurde. Der eingehende Vergleich mit der Originalbeschreibung TRINCHESES ergab, dass es sich bei diesen drei Exemplaren um die echte *Caloria maculata* handelt (Abb. 7).

Beschreibung:

Körperform: schlank, langgestreckt, bis zu 20 mm Länge. Stirntentakel nicht geblättert, nur leicht runzelig. Papillen schlank und zugespitzt, zu 6—8 Gruppen vereinigt. Die Papillen stehen auf beiden Seiten des Rückens, pro Gruppe in 1—6 Querserien zu 1—5 Papillen.

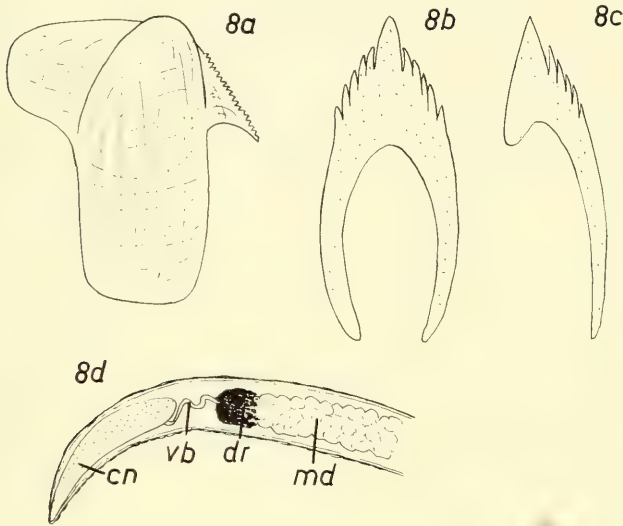


ABB. 8.

Detailzeichnungen zu *Caloria maculata*. a) Kiefer; b) Rahulazahn Aufsicht; c) Radulazahn Seitenansicht; d) Papille (in Methylbenzoat aufgehell). cn = Cnidosack; dr = Drüse; vb = Verbindungsgang; md = Mitteldarmdrüse. (Zeichnungen nach einem Exemplar von 10 mm Länge.)

In den einzelnen Papillen zwischen Mitteldarmdrüse und Knidosack eine sich deutlich abhebende Drüse unbekannter Funktion (Abb. 8d). Schwanz lang und dünn. After zwischen der ersten und zweiten Querreihe der zweiten Papillengruppe. Fuss schmal, vorne zu zwei tentakelartigen Gebilden ausgezogen.

Färbung: weisslich transparent. Von Tentakel zu Tentakel über die Stirn verlaufend ein opak-weisser Streifen. Rhinophoren ebenfalls opakweiss. Von der hintersten Papillengruppe bis zur Schwanzspitze weisser Streifen. Eingeweide gelblich durchschimmernd.

Fortsätze der Mitteldarmdrüse in den Papillen gelblich bis leicht ockerfarben (sehr hell). Drüse tiefschwarz, Spitze der Papillen irisierend weiss.

Radula: Formel O, I, O. Bis 20 Zähne. Der einzelne Zahn ist hufeisenförmig. Der mediane Hauptdentikel ist flankiert von 5 Nebendentikeln (Abb. 8b und 8c).

Kiefer: Form typisch eingebuchtet auf der Hinterseite. Kaurand mit ungefähr 20 Dentikeln (Abb. 8a).

Papillengruppe	Exemplar 1 8 mm		Exemplar 2 11 mm		Exemplar 3 12 mm	
	l	r	l	r	l	r
1	14	16	23	21	23	24
2	7	6	3	5	11	16
3	4	3	4	5	4	8
4	3	2	4	6	4	6
5	1	2	6	5	4	4
6	1	1	3	4	2	4
7	1	1	3	2	2	1
8	—	—	1	1	1	1

Geschlechtsporus: Auf der rechten Körperseite, unter der ersten Papillengruppe, die leicht bogenförmig angeordnet ist. Penis unbewaffnet.

Gelege: zylindrisch, ca. 1 mm im Durchmesser, spiralig augerollt zu einem Gebilde von rund 1 cm Durchmesser (nach TRINCHESE).

Beobachtungen am lebenden Tier: Bewegungen ziemlich lebhaft. Die Stirntentakel werden ständig bewegt. Öfters ruckartiges Zusammenziehen des Körpers wobei die Papillen in allen Richtungen vom Körper abstehen. Während des Umherkriechens hie und da Aufrichten des Vorder-Körpers und suchende (kreisende) Bewegungen. Bei diesem Vorgang bleibt nur die Schwanzspitze auf dem Boden haften.

Diskussion: TRINCHESE bezog den Namen *maculata* sicher auf die schwarz gefärbten Drüsen in den Papillen. Seit 1951 wurde aber von PRUVOT-FOL eine Äolidierform mit *Caloria maculata* bezeichnet, welche auf der Stirn zwei grosse orangerote Flecken aufweist und diese Art in der Tat sehr auffällig charakterisieren.

Die Untersuchung dieser „Pseudo-*Caloria*“ ergab jedoch folgende Differenzen mit TRINCHESES Diagnose. Der Radulazahn hat keine Hufeisenform. Neben dem Hauptdentikel finden sich sechs Nebendentikel. Die Kiefer haben normale Form, besitzen also die *Caloria*-typische Einbuchtung nicht. Die Färbung der Mitteldarmdrüse ist orangerot, nicht gelblich. Die schwarzgefärbte Drüse fehlt, die Papillen der „Pseudo-*Caloria*“ haben nur oberflächlich blaue Färbung, welche im Gegensatz zur schwarzen Färbung bei *Caloria maculata* von der Fixierungslösung zerstört wird. Die Anordnung der Papillen bei den beiden Formen ist verschieden „Pseudo-*Caloria*“ hat nur ein bis höchstens zwei Querreihen pro Papillengruppe. Die orangegelben Flecken auf der Stirne fehlen der *Caloria maculata* vollständig. Das Gelege ist vom Flabellinatyp: ein unregelmässig abgelegtes Band von höchstens einem viertel Millimeter Durchmesser.

Diese Unterschiede lassen erkennen, dass es sich bei den drei vorliegenden Exemplaren um einen Wiederfund von *Caloria maculata* handelt, denn meine eigene Beschreibung deckt sich vollständig mit den Aussagen TRINCHESES. Die irrtümlich mit dem Namen „*Caloria maculata*“ belegte Art ist noch zu beschreiben. Belegexemplar: Nat. Hist. Museum Basel (No. 6237-a).¹

Résumé.

Deux espèces nouvelles (*Trapania maculata* et *Trapania lineata*) sont décrite et l'espèce *Caloria maculata* (TRINCHESE) est discutée. (Les trois formes sont trouvées dans la Méditerranée à Villefranche).

Summary.

Two new species (*Trapania maculata* and *Trapania lineata*) are described and the species *Caloria maculata* (TRINCHESE) is dis-

¹ Faunistische Untersuchungen in Banyuls-sur-Mer (Pyr. Or.) zeigten, dass alle drei in dieser Arbeit diskutierten Opisthobranchierformen auch in dieser Region vorkommen. Ein Exemplar von *Trapania maculata* (Länge 10 mm) und eines von *Trapania lineata* (Länge 5 mm) wurden am 20.5.1960 aus dem Posidonienwiesen der Bucht von Peyrefitte (Tiefe 2—10 m) heraufgebracht. Ein Exemplar von *Caloria maculata* (Länge 8 mm) stammt aus den Algen (0,5—1 m Tiefe) der Bucht von Banyuls (Faugdatum 13.6.1960).

cussed. (The three forms have been found in the Mediterranean at Villefranche).

LITERATUR

- BERGH, R. 1880. *Beitrag zu einer Monographie der Polyceraden. Teil II.* Verh. Zool.-Bot. Ges. Wien, 30.
- HOFFMANN, H. 1939. *Opisthobranchia.* In Bronns Klassen und Ordnungen des Tierreiches.
- IHERING, v. H. 1886. *Beiträge zur Kenntnis der Nudibranchien des Mittelmeeres. Die Polyceraden.* Malakozool. Blätter, N. F. 8.
- PRUVOT-FOL, A. 1951. *Etudes des Nudibranches de la Méditerranée.* Arch. Zool. Exp. Gén., 88.
- 1954. *Mollusques Opisthobranches.* Faune de France, 58.
- SÉGUY, E. 1936. *Code universel des Couleurs.* Lechevalier. Paris.
- TRINCHESE, S. 1888. *Descrizione del nuovo Genere Caloria maculata* (TRINCHESE). Mem. R. Acc. Sc. Bologna, 9.
- VAYSSIÈRE, A. 1913. *Mollusques de la France.* Encyclopédie Scientifique.

N^o 16. **Marguerite Narbel-Hofstetter** Lausanne. — La surmaturation des œufs de *Luffia* (*Lepid. Psych.*)¹. (Avec 5 figures et 3 photographies.)

(Laboratoire de Zoologie de l'Université de Lausanne.)

Le genre *Luffia* comprend deux espèces, *L. ferchaultella*, parthénogénétique thélytoque, et *L. lapidella*. Cette dernière espèce se subdivise en deux formes, l'une bisexuée normale, l'autre pseudogamique et thélytoque (NARBEL-HOFSTETTER, 1955, 1957). Ces trois formes se distinguent principalement par le mode de maturation de l'œuf: 2 divisions de maturation normales et fusion avec le spermatozoïde dans l'œuf bisexué, avortement de la première division de maturation dans l'œuf parthénogénétique et dans l'œuf pseudogamique, l'œuf étant activé par l'entrée du spermatozoïde

¹ Travail subventionné par le Fonds national suisse de la recherche scientifique.

dans le dernier cas. Il est évident que les formes parthénogénétique et pseudogamique dérivent de la forme bisexuée. Les mutations qui leur ont donné naissance ont dû modifier les conditions physico-chimiques de l'œuf, entraînant les différences de comportement des fuseaux et du cytoplasme. Il est intéressant au point de vue de l'origine de la parthénogénèse de chercher à connaître un peu mieux les réactions des divers types d'œufs à quelques stimuli.

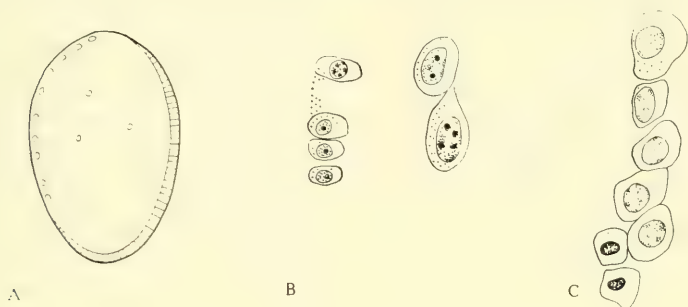


FIG. 1.

L'œuf de la femelle bisexuée: Formation exceptionnelle du blastoderme.

A) Coupe schématique; B) Blastoderme haplo-diploïde. Gr.: env. 470 \times .

C) Blastoderme diploïde d'un œuf fécondé et pondu. Gr. id.

L'expérience la plus facile à réaliser est la surmaturation, soit la rétention forcée des œufs à l'intérieur de la femelle. Supprimant fécondation, activation et ponte, elle place les trois types d'œufs dans les mêmes conditions. Soixante-cinq femelles, totalisant environ 2500 œufs, ont été utilisées à cet effet. Les femelles bisexuées ont été simplement isolées (il est très rare qu'elles pondent sans accouplement préalable), et les femelles parthénogénétiques détachées de leur fourreau. Elles survivent trois à six jours. Une série de fixations effectuées du premier au sixième jour permet de suivre l'évolution des œufs surmaturation. Elle est différente dans les trois formes de *Luffia*. Notons ici que les œufs pondus se développent tous conformément au schéma devenu classique donné par SEHL pour *Ephestia* (SEHL, 1930).

Les œufs des femelles bisexuées normales (40 femelles provenant de Mesocco, Soazza, Chantilly et Saclas) présentent un aspect typique. Dans la très grande majorité des cas, du premier au

sixième jour, l'œuf ne manifeste aucun signe d'évolution. Le fuseau de la première division de maturation reste bloqué en métaphase, le cytoplasme périphérique demeure fin et régulier. Il n'y a guère que le vitellus qui avec l'âge prenne parfois un aspect plus grossier. Vingt œufs sur environ 1200 présentent un début de développement. Ils ont été fixés soit en anaphase de la première division de maturation, soit en pleine segmentation. Leur aspect rappelle beaucoup les œufs pondus au moment de la formation du blastoderme

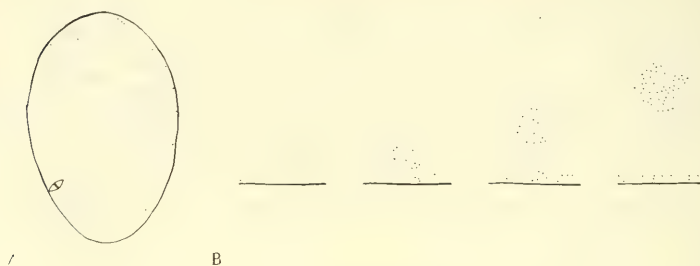


FIG. 2.

L'œuf de la femelle pseudogamique: Segmentation cytoplasmique.

A) Coupe schématique; B) Formation des îlots cytoplasmiques.

(fig. 1 a). Un examen plus attentif révèle cependant d'importantes différences de taille entre les noyaux (fig. 1 b). La comparaison avec un blastoderme normal (fig. 1 c) permet de conclure que nous avons là un mélange de noyaux diploïdes et haploïdes. Les seconds pouvant difficilement être dérivés des premiers, on peut supposer qu'après une segmentation haploïde, des fusions de noyaux (dont nous avons des indices) se produisent, rétablissant le nombre diploïde dans l'embryon. Nous n'avons pas observé de noyaux polyploïdes. Ce début de développement a tous les aspects d'une parthénogénèse rudimentaire ou facultative semblable à celles des Embioptères (STEFANI, 1959) ou de *Clitumnus* (BERGERARD, 1958). La suite du développement est inconnue. Il vaudrait la peine de voir s'il peut aboutir à la formation de chenilles viables. On peut donc conclure que l'inertie de l'œuf bisexué est considérable et qu'en l'absence des stimuli « insémination » et « ponte », le stop en métaphase 1 est important. Dans les cas exceptionnels où ce blocage est surmonté, les divisions de maturation doivent avoir lieu,

la segmentation commence haploïde et des fusions automictiques se produisent tardivement. L'absence de l'amphimixie n'entraîne aucun stop après les divisions de maturation.

Les œufs des femelles pseudogamiques (19 femelles provenant de Saclas, Bignasco et Cevio) présentent tous le même type de développement. Comme dans le cas précédent, la première division de maturation reste bloquée pendant plusieurs jours. Mais, dès le deuxième jour, on voit le cytoplasme périphérique se bosseler, surtout dans la région de l'œuf la plus éloignée du fuseau (fig. 2 a). Ces bosselures s'étendent de proche en proche et sont finalement visibles sur toute la surface de l'œuf, donnant à ce dernier l'aspect approximatif d'un œuf en préblastoderme. Par la suite, les amas de cytoplasme se détachent de la périphérie et s'enfoncent dans le vitellus (fig. 2), ce qui n'est pas le cas pour le préblastoderme normal. On trouve alors des œufs bourrés d'îlots cytoplasmiques sphériques (phot. 1 et 2), chacun de ces îlots étant entourés d'une couronne de globules vitellins très fins. Parfois les sphères cytoplasmiques sont remplacées par de véritables plaques, la migration centripète se fait de façon beaucoup plus grossière. Le fuseau de la première division n'est plus visible dans les stades de segmentation cytoplasmique avancée, il est clair que l'œuf ne peut que dégénérer. Le phénomène présente cependant un certain intérêt: il nous montre une dissociation des activités cytoplasmique et nucléaire typique. La segmentation cytoplasmique est intense quand le noyau de l'œuf dégénère, et paraît inhibée par la proximité d'un fuseau en bon état. Elle est probablement un rappel soit des mouvements du cytoplasme à la maturation, soit de la formation du préblastoderme, mais présente un caractère beaucoup plus spectaculaire.

Les œufs des femelles parthénogénétiques (11 femelles provenant de Cambridge, Theale, Orry et Malmaison) présentent une plus grande diversité dans leur évolution, reflet probable de la variabilité que manifeste l'espèce parthénogénétique dans tous les domaines. Le blocage en métaphase 1 est général pendant un à trois jours. Si l'on trouve ensuite dans chaque femelle quelques œufs stoppés, la plupart des œufs se segmentent activement. Ils ont souvent un aspect normal: on y observe des anaphases de première division de maturation, des premières divisions de segmentation, des préblastodermes et des blastodermes. Plus souvent ils présentent des

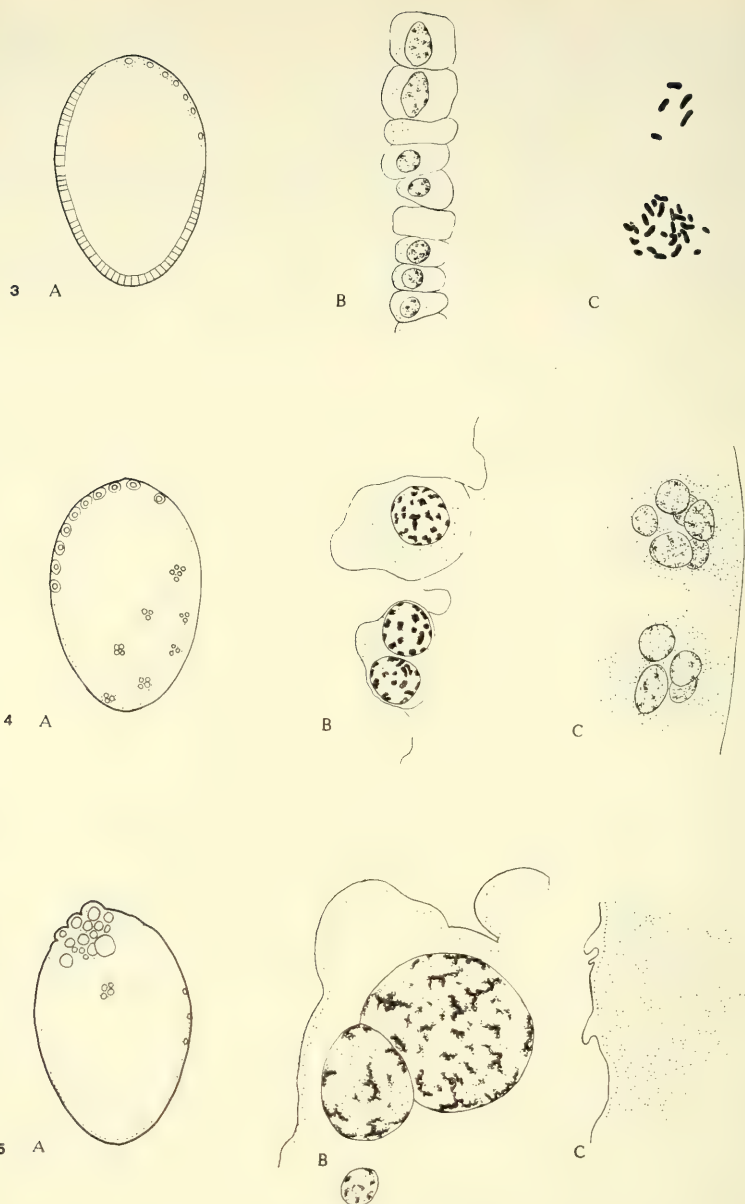


FIG. 3, 4, et 5.

L'œuf de la femelle parthénogénétique: Segmentation et polyploïdisation.

Fig. 3 A) Coupe schématique; B) Blastoderme haplo-diploïde. Gr.: env. 470 \times .
C) Prométaphase blastodermique haploïde (30 chromosomes).

Fig. 4 A) Coupe schématique; B) Noyaux endomitotiques. Gr.: env. 470 \times .
C) Ilots cytoplasmiques garnis de noyaux. Gr. id.

Fig. 5 A) Coupe schématique; B) Noyaux hautement polyploïdes.
Gr.: env. 470 \times . C) Renvlements cytoplasmiques. Gr. id.

caractères anormaux: blastoderme haplo-diploïde (fig. 3 et fig. 8), segmentation polyploïde, bourgeonnement cellulaire exubérant à une extrémité de l'œuf (fig. 5) et segmentation cytoplasmique.

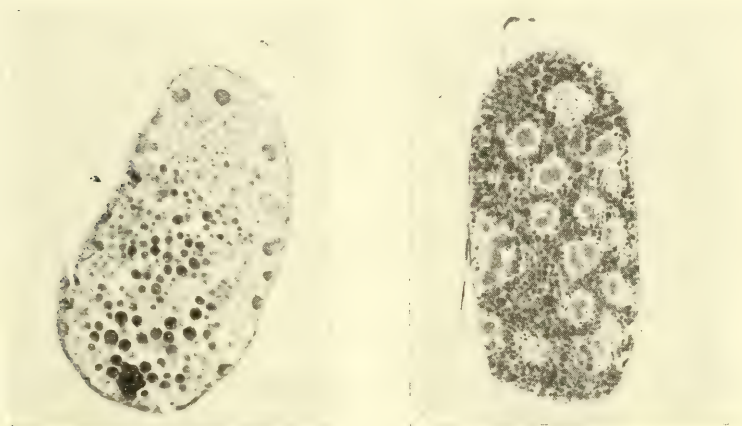


FIG. 6 et 7.

La segmentation du cytoplasme dans l'œuf pseudogamique.

1) Stade jeune; 2) Stade plus âgé. Gr.: env. 60 \times .

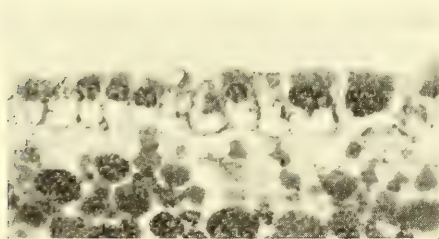


FIG 8.

Blastoderme haplo-diploïde dans l'œuf parthénogénétique. Gr. env. 900 \times .

Deux anomalies me paraissent intéressantes: la présence de noyaux diploïdes ou polyploïdes apparemment bloqués en prophase avancée, présentant tous les caractères de l'endomitose (fig. 4 b), et celle de groupes de noyaux probablement diploïdes dans des îlots cytoplasmiques (fig. 4 c). Ces deux aspects de la segmentation de l'œuf parthénogénétique surmature indiquent donc une considérable activité chromosomique associée à une inactivité fusorielle ou plasmom-

diérétique. Ces diverses anomalies peuvent se trouver cumulées dans le même œuf, lui donnant un caractère anarchique quasi-tumoral. Il n'est pas impossible que certains œufs, d'aspect normal, puissent poursuivre leur développement en une chenille viable. Dans la plupart des cas, néanmoins, ils sont voués à la dégénérescence. Leur caractéristique est donc de montrer une forte tendance à l'activité mitotique en même temps qu'une désorganisation marquée de cette activité. Il n'est pas exclu que de telles perturbations se produisant dans un œuf à la suite d'une mutation puissent occasionnellement créer un mécanisme parthénogénétique efficace.

Si fragmentaires que soient ces résultats ils peuvent apporter une contribution à l'étude de l'origine de la parthénogénèse.

BIBLIOGRAPHIE

- BERGERARD, J. 1958. Etude de la parthénogénèse facultative de *Clitumnus extradentatus* Br. (Phasmidae). Bulletin biol. France et Belg. 92: 89-182.
- NARBEL-HOFSTETTER, M. 1955. La pseudogamie chez *Luffia lapidella* Goeze (Lépid. Psychide). Communication préliminaire. Rev. suisse Zool. 62: 224-229.
- 1957. Thélytoquie et pseudogamie chez *Luffia* (Lépidoptère Psychide). Archiv. Julius Klaus Stiftung 32: 469-474.
- SEHL A. 1930. Furchung und Bildung der Keimanlagen bei der Mehlmotte *Ephestia kuehniella* Zell. Zeitsch. f. Morphol, u. Oekol. der Tiere 20: 533-598.
- STEFANI, R. 1959. *I fenomeni cariologici nella segmentazione dell'uovo ed i loro rapporti con la partenogenesi rudimentale ed accidentale negli Embiotteri*. Caryologia 12: 1-70.

N^o 17. **R. Matthey**, Lausanne. — Contribution à la cytologie comparée des Caméléons.

En 1957, l'auteur a publié une étude sur la cytologie comparée de vingt espèces de *Chamaeleontidae*. L'analyse de la formule chromosomique lui a permis de proposer la création d'un certain nombre de « groupes » d'espèces et il a attiré l'attention sur l'existence de deux types principaux de formules chromosomiques, l'un

typique pour la majorité des Caméléons africains, l'autre pour la majorité des Caméléons malgaches.

Les données nouvelles qui seront publiées, en collaboration avec J. VAN BRINK dans le Bulletin de la Société vaudoise des Sciences naturelles, se rapportent à six espèces, soit *C. jacksoni*, *C. quadricornis*, *C. wiedersheimi* (africains); *C. monoceras* et *C. willsi* (malgaches); *C. calcaratus* (indien). Ce matériel permet les conclusions suivantes: 1) la corrélation entre type de formule et habitat est statistiquement assurée; 2) *C. jacksoni* est étroitement apparenté à *C. bitaeniatus* et *C. calcaratus* à *C. chamaeleon*; 3) l'apparition de caractères sexuels très différenciés chez les mâles de plusieurs espèces est polyphylétique; 4) le groupement proposé en 1957 et la plupart des inductions qui en découlent sont en très bon accord avec le travail récent de HILLENUS (1959) qui, travaillant avec les méthodes classiques de la taxonomie, arrive à des résultats très semblables aux nôtres.

AUTEURS CITÉS

- R. MATTHEY. 1957. *Cytologie comparée et taxonomie des Chamaeleontidae (Reptilia-Lacertilia)*. R. suisse Zool., 64: 709-732.
 D. HILLENUS. 1959. *The differentiation within the genus Chamaeleo Laurenti, 1768*. Acad. Proefschr., Wageningen.

N^o 18. **Thea Meyer-Taplick** und **P. S. Chen**, Zürich. —
 Zur Histologie des Mitteldarms normaler und letaler
 (*lme*) Larven von *Drosophila melanogaster*¹.

Aus dem zoologisch-vergl.-anatomischen Institut der Universität Zürich.

I. PROBLEMSTELLUNG.

Die Mutante *letal-meander* (Symbol *lme*; 2, 71-73) von *Drosophila melanogaster* wurde von HADORN (HADORN und SCHMID 1947) im Stamm *spermatheca* (*Spt*) gefunden, wo sie spontan aufgetreten

¹ Die vorliegende Arbeit wurde zum Teil durch die Unterstützung der Karl-Hescheler-Stiftung ausgeführt.

ist. Der Faktor *lme* bewirkt in homozygoten Individuen den Tod im 3. Larvenstadium. Heterozygot erscheinen die Tiere normal (s. HADORN 1955).

SCHMID (1949) führte eine Analyse der Mutation durch und konnte feststellen, dass eine Störung des Proteinstoffwechsels vorliegt. Diese Schlussfolgerung wurde durch die weiteren Untersuchungen von CHEN (1958) und CHEN und SCHLÄPFER (1960) bestätigt. Der Verdauungsversuch in vitro von CHEN und HADORN (1955) bewies, dass die proteolytische Enzymaktivität des Darmhomogenats der *lme/lme*-Larven sehr stark herabgesetzt ist. Es ist nun zu untersuchen, ob der Darm der homozygoten *lme*-Tiere normal aufgebaut ist. Der allgemeine Bau des Verdauungstrakts von *Drosophila*-Larven wurde bereits von M. STRASBURGER (1932) und BODENSTEIN (1950) beschrieben. SIANG-HSU (1947) untersuchte die Beziehung der Golgikörper und Mitochondrien zur Sekretbildung des Mitteldarmepithels. Im folgenden wird über einige histologische und histochemische Untersuchungsergebnisse des Mitteldarms der normalen und letalen Larven berichtet.

II. MATERIAL UND METHODE.

Der Faktor *lme* wird in unserem Institut in einem balancierten System über *Curly* (*Cy*) gehalten. Das Auskreuzen und die Zuchtmethoden wurden in früheren Arbeiten beschrieben (SCHMID 1949, CHEN und HADORN 1955). Es wurden 3- und 4-tägige *lme*/+- und *lme/lme*-Larven des 3. Stadiums für die Untersuchungen und histologischen Präparate verwendet. Als zusätzliche Kontrolle dienten die +/-Larven des Wildstammes „Sevelen“. Die Larven wurden auf einem Futtergemisch aus Mais, Zucker, Hefe und Agar bei 25° gezüchtet.

Für die allgemeine Histologie wurden die Larven in Carnoy'scher Flüssigkeit fixiert und über absoluten Alkohol, Methylbenzoat und Benzol in Paraffin eingebettet. Nach unserer Erfahrung ist ein tagelang bis wochenlanges Liegenlassen der Objekte in Methylbenzoat zu empfehlen. Die Gewebe werden geschmeidiger und weicher, und lassen sich besser schneiden. Vor der Färbung wurden die Schnitte einer sauren Hydrolyse (in 1*N*-HCl) bei 60° unterworfen. Für die Kernfärbung diente Hämatoxylin-Delafield, und für die Plasmafärbung Eosin.

Für den Nachweis der chemischen Zusammensetzung des Darmgewebes verwendeten wir die folgenden histochemischen Methoden: die Perjodsäure-Schiff'sche Reaktion (PAS) (HOTCHKISS 1948) für Polysaccharide, das Alcianblau (STEEDMAN 1950) für saure Mucopolysaccharide, das „fastgreen“ (SCHRADER und LEUCHTENBERGER 1950) für basische

Proteine und das Sudanschwarz B (ROMEIS 1948) für Lipide. Die Färbung mit Sudanschwarz wurde an Darmstücken nach Fixierung in Formol (10%) durchgeführt. Für den Nachweis von Kupfer wurden frisch seziierte Darmabschnitte mit Natriumdiaethyldithiocarbonatlösung (0.1%) und HCl (2%) behandelt (WATERHOUSE 1945, POULSON und BOWEN 1951).

III. HISTOLOGISCHE UND HISTOCHEMISCHE BEFUNDE.

1. Magen und Magenblindschläuche.

Der Mitteldarm von *Drosophila*-Larven beginnt unmittelbar hinter dem vorderen Imaginalring, der am Oralende des Proventriculus liegt. Demnach ist die Aussenwand des Proventriculus bereits dem Mitteldarm zuzuschreiben. In diesem Bereich liegen die Bildungszellen der peritrophen Membran (SIANG-HSU 1947, RIZKI 1956). In Übereinstimmung mit RIZKI fanden wir in der Aussenwand des Proventriculus grosse kubische Epithelzellen, die eine starke PAS-Reaktion aufweisen und zahlreiche, feine, rotgefärbte Polysaccharidgranula enthalten.

Kurz nach der Einmündung der Magenblindschläuche erweitert sich der Verdauungstraktus zu einem sackförmigen Gebilde mit grosszelliger Wandung, dem Magen. Unsere Beobachtungen stimmen weitgehend mit denen M. STRASBURGER's überein: „Die Magenwand besteht aus grossen, polygonalen Zellen, die bei Ansicht auf den ruhenden Magen eine bienenwabenhähnliche Gestalt haben“ (1932, s. 587). Das histologische Bild zeigt zwei charakteristische Zustände des Epithels, die in den einzelnen Schnittserien auftreten und sehr wahrscheinlich mit dem Funktionszyklus des Magens im Zusammenhang stehen.

Manchmal findet man ein flaches, zusammenhängendes Magenepithel mit dicht aneinandergrenzenden Zellrändern und in der Mitte liegenden oder mehr dem Lumen genäherten Kernen (Abb. 1 a). Die Kerne sind nicht deutlich umrissen, sondern erscheinen, wie die Zellgrenzen, verschwommen. Die dem Lumen zugewandten Zellränder sind hier ausgefranst und scheinen sich als fein granulöse Substanz in das Lumen hinein aufzulösen. Wahrscheinlich handelt es sich hier um eine Sekretionsphase. Auch beobachtete SIANG-HSU (1947), dass die Epithelzellen während der Sekretion zum Teil zugrundegehen, und dass das aufgelöste Zell-

material zusammen mit dem Sekret in das Magenlumen abgestossen wird. Demnach ist der Sekretionsmechanismus dieser Zellen demjenigen der merokrinen Drüsen gleichzusetzen. In der ganzen Epithelzelle verteilt finden sich immer optisch leere, farblose Vakuolen, die an der Einmündungsstelle der Magenblindschläuche

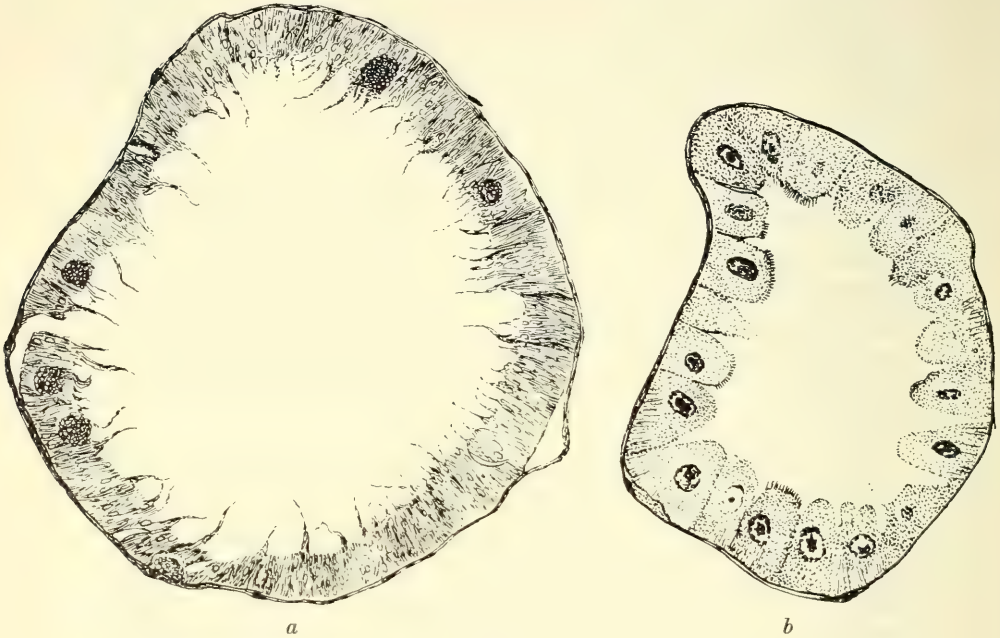


ABB. 1.

- a) Magenepithel in der Sekretionsphase, Querschnitt, +/+ — Larve. Vergr. 490×.
 b) Magenepithel einer 4-tägigen *lme/lme*-Larve. Vergr. 410×.

am grössten und zahlreichsten sind (Abb. 2), doch erreicht das Plasma niemals die stark vakuolisierte, schaumige Beschaffenheit, wie sie später noch für einen ebenfalls sezernierenden Abschnitt des eigentlichen Mitteldarmes zu beschreiben sein wird (hierfür vergl. Abb. 7). Die Sekretionsschicht und der dem Lumen zugewandte Teil der Zellen zeigen eine relativ schwache PAS- und eine deutliche „fastgreen“-positive Reaktion.

Sehr häufig dagegen beobachtet man eine zweite Sorte von Magenzellen, die höher als breit sind (Abb. 2). Die grossen, polygonalen Zellen stossen entweder nur mit den Rändern des basalen

Teils der Zelle zusammen, oder sie ragen vollkommen voneinander isoliert in das Lumen. Die Kerne sind rund bis oval und liegen in der Mitte oder in dem dem Lumen zugewandten Zellabschnitt; der Nucleolus ist meistens deutlich dunkelblau angefärbt. Farblose, optisch leere Vakuolen füllen auch hier fast die ganze Zelle oder nur deren inneren Abschnitt aus. Der Stäbchensaum, der bei den

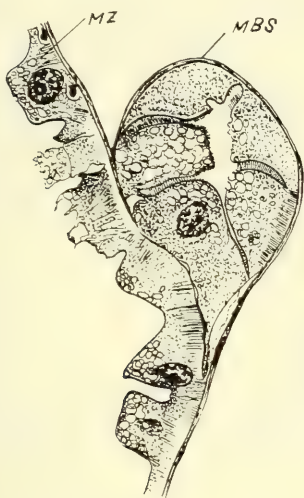


ABB. 2.

Magenzellen (MZ) kurz vor der Sekretion und Magenblindschleue (MBS), Querschnitt, normale Larve. Vergr. 450 \times .



ABB. 3.

Epithelzellen im vorderen Mitteldarm in Anschluss an die Magenzellen, normale Larve. Vergr. 410 \times .

Ruhezellen deutlich gebildet ist, löst sich ganz auf, oder ist nur noch in basalen, den Nachbarzellen angrenzenden Randabschnitten vorhanden (hierfür vergl. SIANG-HSU 1947, Abb. 21, 22 und 24). Der dem Lumen zugewandte Teil des Zellplasmas erwies sich als PAS- und „fastgreen“-positiv, und unterscheidet sich deutlich vom basalen Zellbereich. Vermutlich stehen diese Zellen kurz vor der Sekretion.

Die *lme/lme*-Larven weisen nie eine so ausgeprägte Sekretionsphase auf, wie die Normalen. Nur an wenigen Zellen lässt sich die faserig aufgelöste Zellwand erkennen, und die fein granulöse Substanz, die von den normalen Magenzellen eine ganze Strecke weit ins Lumen abgegeben wird,

ist meistens auf sehr kleine Zonen beschränkt. Magenzellen, die nur mit den seitlich-basalen Zellrändern zusammenstossen, und mehr oder weniger weit voneinander isoliert ins Lumen ragen, wie es eben für das Magenepithel der normalen Tiere beschrieben wurde, kommen bei den homozygoten *lme*-Larven eher selten vor (Abb. 1 b). Das Plasma dieser Zellen erscheint auffallend homogen. Nur gelegentlich findet man winzige, helle Vakuolen in solchen *lme*-Magenzellen. Der Stäbchensaum ist oft intakt, und die Kerne sind gegen das Plasma scharf abgegrenzt und besitzen klar angefärbte Nucleolen.

Die Epithelzellen der Magenblindschläuche weisen ein ähnliches Bild auf wie die eigentlichen Magenzellen vor der Sekretion (Abb. 2). Sie sind mit einem Stäbchensaum versehen und enthalten ebenfalls zahlreiche, farblose Vakuolen. Dies deutet auf die Sekretionsfunktion des Epithels hin.

2. Vorderer Mitteldarm.

Bekanntlich legt sich der eigentliche Mitteldarm der *Drosophila*-Larven in vier Schleifen. Im folgenden benutzen wir die von M. STRASBURGER angegebene Einteilung der Darmabschnitte (Ia-IVb).

Das Magenlumen wird in der aboralen Richtung zunehmend kleiner, bis der Darmtraktus eine Biegung macht und in die Windungen des eigentlichen Mitteldarms übergeht. Histologisch lässt sich an dieser Stelle keine plötzliche Veränderung der Zellen wahrnehmen, sondern man trifft zunächst eine Übergangszone, die noch Magenzellen aufweist, und später neben diesen auch kegelförmige Zellen enthält (Abb. 3). Diese Zone erstreckt sich bis zum Beginn des Abschnitts Ia. Die Kerne beider Zelltypen unterscheiden sich nicht voneinander, sind rund bis oval, und liegen in der Mitte der Zelle oder mehr dem Lumen genähert. Das Plasma enthält vereinzelte, farblose Vakuolen.

Der grösste Teil des Darmabschnitts Ia ist durch sehr charakteristische Epithelzellen gekennzeichnet. Auf dem Querschnitt sind Buchten zu beobachten, die vom Darmlumen her in die Zellen gehen (Abb. 4). Solche Buchten kommen zunächst nur unregelmässig vor und treten schliesslich in regelmässiger Anordnung auf. Auf den einzelnen Schnitten sieht man deutliche Gänge, die vom

Lumen aus in die Zellen gehen, und sich dann nach beiden Seiten verzweigen, sodass eine zweilappige bis herzförmige, mehr oder weniger zusammengedrückte Bucht entsteht. Ferner findet man um den Kern herum in sich abgeschlossene, halbmondförmige Hohlräume, die unverzweigt sind. Verfolgt man diese Hohlräume

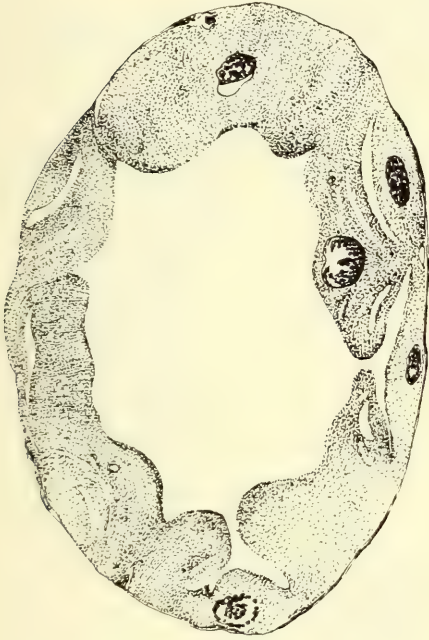


Abb. 4.

Calycocyten mit „Zell-Einbuchtungen“ im vorderen Mitteldarm.
Vergr. 620 \times .

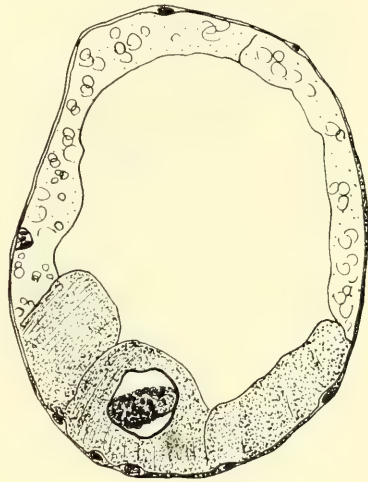


Abb. 5.

Epithelzellen im Endabschnitt des vorderen Mitteldarms. Vergr. 600 \times .

auf den Schnittserien, so erkennt man, dass sie mit den beschriebenen herzförmigen Buchten zusammenhängen und in diese übergehen. Diese Zellen sind die Calycocyten, die nach POULSON und BOWEN (1952, a und b) vor allem der Absorption von Cu^{+} -Ionen dienen. Zwischen den Calycocyten liegen kleinere, etwa dreieckige Zellen. Bei den Zellen mit Einbuchtungen liegen die Kerne in der Mitte unterhalb der Bucht und des Ausführorganges. In den dreieckigen Zellen liegen sie dicht unter der dem Lumen zugewandten Zellwand.

Die Calycocyten kommen bei *lme/lme*-Larven regelmässig vor. Die frisch seziierten Darmstücke von letalen Larven, die vorher mit CuSO_4 -haltigem Futter gefüttert worden sind, zeigten eine deutlich positive Reaktion nach der Behandlung mit Natriumdiäthylthiocarbamat¹. Dies bewies, dass die Calycocyten der homozygoten *lme*-Larven, wie die Normalen, auch fähig sind, Kupfer zu speichern.

Die eben beschriebenen Calycocyten werden nun allmählich abgelöst von einem Epithel, das aus zwei Zellsorten besteht (Abb. 5). Die Zellen des einen Typs sind entweder breiter als hoch, oder viel höher als breit, deutlich quergestreift, und ragen „polsterartig“ in das Lumen hinein. Die andere Zellart ist sehr flach und von schaumig-poröser Beschaffenheit. Beide Zelltypen kommen nebeneinander vor: die Polsterzellen bilden die eine Hälfte des Epithelrings, und die schaumigen Zellen die andere Hälfte. Diese Zone, die sich vom Ende des Abschnitts Ia etwa bis zur Mitte des Abschnitts Ib ausdehnt, konnten wir in allen Serien finden, sowohl bei letalen als auch bei normalen Larven. Es scheint unwahrscheinlich, dass diese Stelle immer beim Schneiden schräg getroffen wurde. Eine Differenzierung der Epithelzellen parallel zur Darmachse wurde ebenfalls von WATERHOUSE (1955) im Enddarm von *Lucilia cuprina* beobachtet.

3. Mittlerer Mitteldarm.

Der nun folgende Abschnitt des Mitteldarms (vordere Hälfte von Ib bis ca. zum zweiten Drittel von IIIb) wird von einem kubischen Epithel gebildet, dessen histologische Bilder auf einen Funktionszyklus schliessen lassen (s. M. STRASBURGER 1932). Und zwar kann man eine Sekretionsphase von einer darauffolgenden Ruhe- oder Regenerationsphase unterscheiden. Während der Sekretionsphase haben die Querschnitte, verglichen mit dem gesamten Mitteldarm, den grössten Durchmesser. Die Zellen sind höher als breit und haben eine mehr oder weniger deutliche Streifung im Plasma (Abb. 6a). Am inneren Zellrand erkennt man einen gut gebildeten Stäbchensaum. Besonders auffallend ist der dem Lumen

¹ Wir verdanken Herrn Prof. Dr. D. F. POULSON, New Haven, eine Einführung in diese Nachweismethode.

zugewandte Zellteil: dieser ist mit grossen runden, optisch leeren Vakuolen angefüllt, wie sie niemals im Magen oder in anderen Mitteldarmabschnitten zu finden sind. Auch beobachtete SIANG-HSU (1947, Abb. 27 und 28) grosse „Golgimaterial- und Sekretions-

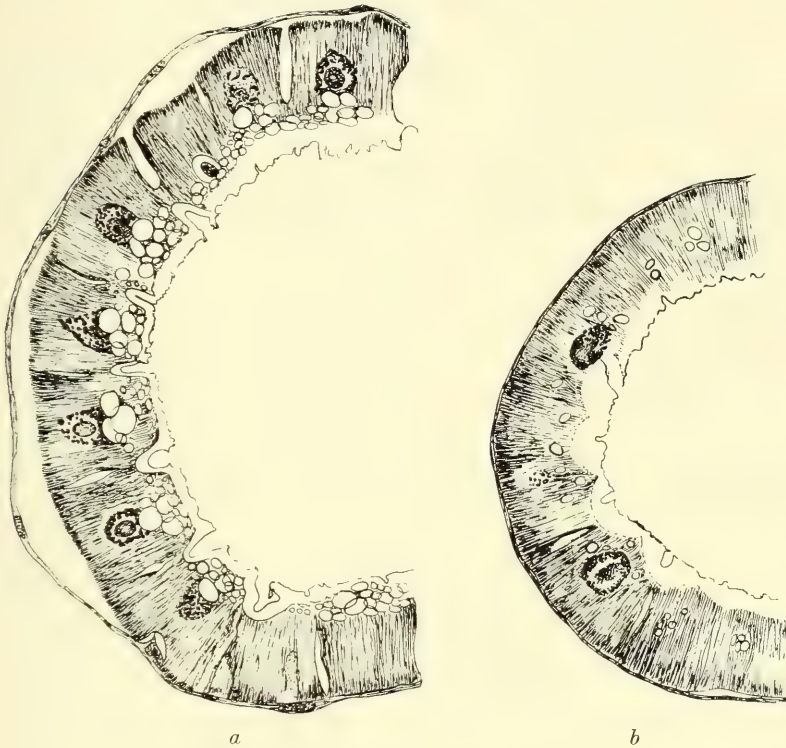


Abb. 6.

- a) Epithelzellen im mittleren Mitteldarm (Muscularis von Darmepithel abgelöst), Sekretionsphase, 4-tägige $+/+$ -Larve. Vergr. $600\times$.
 b) Epithelzellen im mittleren Mitteldarm einer *lme/lme*-Larve. Vergr. $810\times$.

komplexe“ in den Epithelzellen des vorliegenden Darmabschnitts. Die Sekret-Vakuolen liegen meistens unmittelbar am Kern, der dann nicht mehr rund, sondern einseitig eingedrückt erscheint (vergl. Abb. 1a). Die Kerne sind deutlich gefärbt und mit stark basophilen Granula durchsetzt; die Nucleoli sind dunkel blau-rot gefärbt. Man findet im Präparat sehr oft Lücken oder Risse zwischen den Zellen, die wohl durch Schrumpfung des Plasmas bei der

Fixierung oder Streckung der Paraffinschnitte entstanden sind. Nach der Sekretion bilden die Zellen nur noch ein flaches Epithel ohne Sekretvakuolen mit runden oder ovalen Kernen. Ein ununterbrochener, wenig ausgefranster Stäbchensaum überzieht die dem Lumen zugewandten Zellränder. Wenn die Zellen in Sekretionsphase sind, ist der Stäbchensaum dagegen meistens höckerig und unzusammenhängend, oder teils sogar aufgelöst (vergl. S. 248).

Die histochemischen Untersuchungen ergaben, dass der Stäbchensaum sich mit PAS-Reagens scharf färben lässt. Auch erwiesen sich die peritrophe Membran und der in diese eingeschlossene Darminhalt, als stark PAS-positiv (s. RIZKI 1956). Das "fastgreen" färbt den Stäbchensaum ebenfalls deutlich, während mit Alcianblau meistens nur der basale, vakuolenfreie Plasmateil gefärbt wird.

Im mittleren Mitteldarm der homozygoten *lme*-Larven konnten grosse, unmittelbar am Kern liegende Vakuolen, wie sie eben für den normalen Darm beschrieben wurden, nicht nachgewiesen werden. Es treten in den Zellen nur vereinzelte, meistens winzige Vakuolen auf (Abb. 6b). Das letale Epithel gleicht dem Mitteldarmepithel der normalen Larven, das nicht in Sekretionsphase ist: Die Zellen sind kubisch und besitzen runde, deutlich gefärbte Kerne. Die Kerne weisen meistens blau-rot gefärbte Nucleoli auf und sind mit stark, basophiler Granulation durchsetzt. Die dem Lumen zugewandten Zellränder werden von einem glatten, nur an wenigen Stellen ausgefransten Stäbchensaum überzogen. Die Epithelzellen der *lme/lme*-Larven zeigen also eine auffallend geringe sekretorische Tätigkeit. Diese Tatsache ist in Übereinstimmung mit dem früheren Befund von CHEN und HADORN (1955), wonach das Darmhomozygotat der letalen *lme/lme*-Individuen, im Vergleich mit den Normalen, eine stark herabgesetzte Fermentaktivität hat.

4. Hinterer Mitteldarm.

Es folgt zuletzt der hintere Mitteldarm oder Endmitteldarm, dessen Epithel, anschliessend an die sezernierenden Zellen des mittleren Mitteldarms, sich bis zur Einmündungsstelle der MAL-

PIGHIschen Gefässe fortsetzt (vorderes Drittel von IIIa plus IVa und IVb). Die Zellen sind spitz- bis stumpfkegelförmig, unregelmässig mit kleinen Vakuolen angefüllt und weisen einen breiten, zusammenhängenden Stäbchensaum auf, wie er sonst im Mitteldarm niemals vorkommt (Abb. 7). Die Kerne sind rund, in der Mitte der Zelle oder mehr basal gelegen. Das Querschnittsbild ist für diesen Darmabschnitt sehr charakteristisch durch das bogenförmige „Girlandenepithel“ und den darüberliegenden, breiten Stäbchensaum. Fettgranula, die sich an frisch seziierten Darmstücken mit Sudanschwarz B leicht anfärben lassen und in Epithelzellen des ganzen Mitteldarms vorkommen, sind in den Zellen des vorliegenden Abschnitts besonders gross und zahlreich, und liegen dicht am Kern. Eine Sekretionstätigkeit, wie sie für den Magen und mittleren Mitteldarm beschrieben wurde, wurde nie beobachtet. Nach der Angabe M. STRASBURGER'S (1932) und unserer eigenen Untersuchung handelt es sich hier sehr wahrscheinlich um eine Absorptionszone.



ABB. 7.
„Girlandenepithel“ des hinteren
Mitteldarms einer normalen
Larve. Vergr. 610 \times .

In diesem Darmabschnitt unterscheiden sich die *lme/lme*-Tiere kaum von den Normalen. Der Stäbchensaum sowohl des normalen wie auch des letalen Epithels zeigt eine deutlich PAS- und „fast-green“-positive Reaktion. Die letalen Epithelzellen enthalten auch Fettgranula wie die normalen.

IV. SUMMARY.

1. The midgut epithelium of both normal and lethal (*lme*) *Drosophila* larvae of the third-instar was studied by histological and histochemical methods.

2. In the stomach of the normal larvae two types of epithelial cells were described: cells in the secretory phase (Fig. 1a) and those shortly before secretion (Fig. 2). During the secretory phase, because of cell desintegration, fibrous structures sometimes

appear at the inner border of the epithelium. Very often the inner part of the cells shortly before secretion is filled with vacuoles and usually bulges into the lumen. The striated border, which shows a strongly PAS- and "fastgreen"-positive reaction, either disappears entirely or remains visible only in the basal part of the cell border.

In the lethal *lme/lme*-larvae stomach cells in the secretory phase were never found. The epithelial cells contain very few vacuoles and the striated border appears more or less intact (Fig. 1b).

3. In the anterior section of the midgut of both normal and lethal larvae calycocytes are present (Fig. 4). Using the sodium diethyldithiocarbamate test it was found that the calycocytes of the homozygous *lme*-larvae are able to accumulate copper as are those of the wild type.

4. In the middle midgut of the normal larvae cells both in secretory and resting phase were observed. In the secretory epithelial cells the cytoplasm near the lumen is filled with numerous, large vacuoles (Fig. 6a). These cells are therefore foamy in appearance. In the resting epithelial cells there are only a few scattered, small vacuoles.

In the *lme/lme*-larvae no secretory epithelial cells of foamy appearance were found. These "lethal" epithelial cells have a markedly homogenous cytoplasm and look very similar to the resting cells of the normal larvae (Fig. 6b). This fact is in agreement with our earlier observation (CHEN and HADORN 1955), according to which the activity of the proteolytic enzymes in these lethal larvae is much reduced.

5. In the posterior midgut of both genotypes the epithelial cells are wedge-shaped, contain very few vacuoles and have a broad striated border (Fig. 7). The main function of this part of the epithelium is probably absorption.

LITERATURVERZEICHNIS

- BODENSTEIN, D. 1950. *The postembryonic development of Drosophila*. In M. DEMEEC: *Biology of Drosophila*, S. 275-367. New York.

- CHEN, P. S. 1958. *Weitere Untersuchungen zur Stoffwechselphysiologie der Mutante letal-meander (lme) von Drosophila melanogaster*. Arch. Jul. Klaus-Stiftung 33: 82.
- und E. HADORN. 1955. *Zur Stoffwechselphysiologie der Mutante letal-meander (lme) von Drosophila melanogaster*. Rev. suisse Zool. 62: 338.
- und Th. SCHLÄPFER. 1959. *Zur Atmungsphysiologie der Mutante letal-meander (lme) von Drosophila melanogaster*. Arch. Jul. Klaus-Stiftung. Arch. Jul. Klaus-Stiftung 34:240.
- HADORN, E. 1955. *Letalfaktoren in ihrer Bedeutung für die Erbpathologie und Genphysiologie der Entwicklung*. Stuttgart.
- und W. SCHMID. 1947. *Drosophila Information Service* 26: 68.
- HOTCHKISS, R. D. 1948. *A microchemical reaction resulting in the staining of polysaccharide structures in fixed tissue preparations*. Arch. Biochem. 16: 131.
- POULSON, D. F. und BOWEN, V. T. 1951. *The copper metabolism of Drosophila*. Science 114: 486.
- und — 1952. *Organization and Function of the inorganic constituents of nuclei*. Exp. Cell Res. Suppl. 2: 161.
- , —, HILSE, R. M. und RUBINSON, A. C. 1952. *The copper metabolism of Drosophila*, Proc. Nat. Acad. Sci. 38: 912.
- RIZKI, M. T. M. 1956. *The secretory activity of the proventriculus of Drosophila melanogaster*. J. Exp. Zool. 131: 203.
- ROMEIS, B. 1948. *Mikroskopische Technik*. München.
- SCHMID, W. 1949. *Analyse der letalen Wirkung des Faktors lme (letal-meander) von Drosophila melanogaster*. Z. Vererbungslehre 83: 220.
- SCHRADER, F. und C. LEUCHTENBERGER. 1950. *A cytochemical analysis of the functional interrelations of various cell structures in Arveilus albopunctatus*. Exp. Cell Res. 3: 421.
- SIANG-HSU, W. 1947. *On the cytoplasmic elements in the midgut epithelium of the larvae of Drosophila melanogaster*. J. Morph. 80: 161.
- STEEDMAN, H. F. 1950. *Alcian blue 8GS: A new stain for mucin*. Quart. J. Micr. Sci. 91: 477.
- STRASBURGER, M. 1932. *Bau, Funktion und Variabilität des Darmtractus von Drosophila melanogaster Meigen*. Z. wiss. Zool. 140: 539.
- WATERHOUSE, D. F. 1945. *Studies of the physiology and toxicology of blow flies. 10. A histochemical examination of the distribution of copper in Lucilia cuprina*. Coun. Sci. Industr. Res. Aust. Bull. No. 191: 5.
- 1955. *Functional differentiation of the hindgut epithelium of the blowfly larva into longitudinal bands*. Aust. J. Biol. Sci. 8: 514.
-

N° 19. **A. Meylan**, — Contribution à l'étude du polymorphisme chromosomique chez *Sorex araneus* L. (*Mamm. Insectivora*). (Note préliminaire.) (Avec 2 figures dans le texte.)

Laboratoire de Zoologie et d'Anatomie comparée, Université de Lausanne.

La formule chromosomique de *Sorex araneus* L. est décrite pour la première fois par BOVEY (1948) qui examine les différents stades de la spermatogenèse chez deux mâles capturés en Suisse, l'un en plaine, l'autre dans les Préalpes. Les deux individus possèdent à l'état diploïde 23 chromosomes, qui se répartissent en dix paires autosomiques formées d'éléments méta- ou submétacentriques, et en un trivalent sexuel. Le **N. F.** (nombre fondamental) total est de 44, soit 40 pour les autosomes et 4 pour les hétérochromosomes. BOVEY formule deux hypothèses relatives à la nature du trivalent, celui-ci pouvant correspondre soit à $X_1 X_2 - Y$, soit à $X - Y_1 Y_2$. L'examen de la femelle étant indispensable pour résoudre le problème et n'ayant pu être pratiqué, BOVEY laisse la question en suspens.

Etudiant 6 *S. araneus*, 2 ♀♀ et 4 ♂♂, récoltés dans une seule station de Grande-Bretagne, SHARMAN (1956) constate que le trivalent correspond au second schéma de BOVEY, les femelles possédant 22 chromosomes. Ce cytologiste relève dans l'examen du complexe sexuel que le chromosome **X** est un grand métacentrique et non un élément de taille moyenne comme l'avait admis BOVEY.

De plus, SHARMAN constate que les mâles examinés ne possèdent pas un nombre chromosomique constant, celui-ci variant de 22 à 25. Le **N. F.** autosomique est toujours égal à 36, d'où l'idée d'une variation de type robertsonien.

Poursuivant l'étude de ce polymorphisme chromosomique. FORD, HAMERTON et SHARMAN (1957) examinent 50 *S. araneus* provenant de la même région. Confirmant les résultats de SHARMAN, ces auteurs constatent une variation plus étendue du nombre diploïde qui est de 22 à 27 chez les ♂♂ et de 22 à 25 chez les ♀♀. Le **N. F.** autosomique reste constant et égal à 36.

Abstraction faite des chromosomes sexuels, conformes chez tous les individus au schéma donné, les auteurs précités classent les autosomes en 9 paires d'éléments méta- ou submétacentriques, dont trois paires (6, 7 et 8) sont susceptibles de variation robertsonienne. Chacune de ces trois paires, d'une manière indépendante, peut être représentée par 2 **V**, par 1 **V** et 2 **I** ou par 4 **I**; théoriquement, il y a $3^3 = 27$ types cytologiques possibles. Le nombre diploïde des mâles peut varier de 21 à 27, celui des femelles, de 20 à 26. Sur 42 individus dont la formule chromosomique a pu être déterminée, 15 types différents ont été identifiés par l'examen des divisions diploïdes. Dans la population étudiée (Berkshire), homozygotes et hétérozygotes, composent un système polymorphique équilibré.

MATTHEY (1958) rapporte, d'après une communication personnelle de FORD, que HAMERTON a étudié des *S. araneus* des îles anglo-normandes, dont le nombre et la forme des chromosomes correspondent aux données de BOVEY.

Durant l'été 1959, j'ai piégé de nombreux *S. araneus* parmi lesquels 11 mâles. 5 individus proviennent de trois stations du Jura (La Givrine s/Saint-Cergue, Le Brassus, La Poyette s/Ligne-rolle), 2 des Plans s/Bex (Préalpes vaudoises) et 4 du col de Bretolet s/Champéry (Alpes valaisannes).

Les préparations de testicules ont été effectuées par la méthode des « squashes » décrite par MATTHEY (1953) et colorées soit à l'hématoxyline de Ehrlich, soit à la fuchsine de Feulgen. Les résultats consignés plus bas se fondent essentiellement sur l'analyse des divisions spermatogoniales.

Les 5 sujets du Jura et les 2 provenant des Plans s/Bex présentent un nombre diploïde de 23 chromosomes (fig. 1). Le trivalent est conforme au schéma de Sharman; il comprend un grand **X** métacentrique, un petit **Y**₁ acrocentrique et un grand **Y**₂ de même forme. Ces trois éléments sont facilement reconnaissables. Pour chacun des 20 autosomes, la position du centromère est nette et les bras sont distincts. Ils forment ainsi dix paires de méta- ou submétacentriques, avec un **N. F.** autosomique de 40, ce qui correspond aux caryogrammes donnés par BOVEY.

Les 4 mâles adultes, capturés au col de Bretolet, montrent des formules chromosomiques différentes et nouvelles. Chez deux individus seulement, le nombre diploïde a pu être établi avec cer-

titude: il est de 31 chromosomes (fig. 2). Le trivalent sexuel est identique à celui observé dans les formes à 23. Les autosomes se répartissent en 12 méta- ou submétacentriques et en 16 acrocentriques, le **N. F.** restant égal à 40. Des deux autres individus, l'un possède probablement 31 chromosomes et l'autre 27. Chez ce dernier sujet, certaines divisions semblent cependant dotées de 29 chromosomes. Ce dernier chiffre est moins vraisemblable, car l'analyse des métaphases I montre constamment 12 éléments en plus du trivalent sexuel, ce qui correspondrait bien au nombre diploïde de 27.

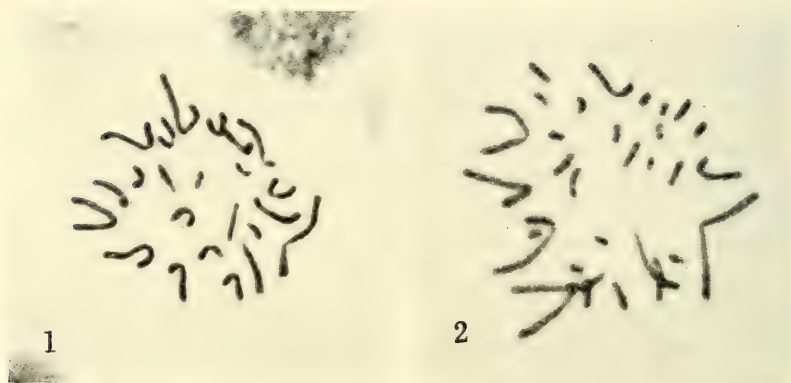


FIG. 1 et 2.

Sorex araneus.

Photographies de «squashes» de testicules. Métaphases de divisions spermatogoniales ($\times 1700$).

Fig. 1. Forme à 23 chromosomes.

Fig. 2. Forme à 31 chromosomes.

Mesurant les éléments sur des figures très fortement agrandies et cherchant à préciser exactement les paires d'homologues, j'ai établi les sériations pour les formes à 23 et 31 chromosomes. Les autosomes du type $2N = 31$ comprennent 6 paires de méta- ou submétacentriques qui correspondent à 6 paires du type $2N = 23$. Les 16 acrocentriques sont assimilables, de par leurs dimensions, au 16 bras des 4 paires restantes. Cette variation paraît être de type robertsonien, chaque autosome des 4 paires considérées étant représenté par un **V** dans les formes à 23 et par un **I** dans celles à 31.

A la suite de ces premières observations, on peut émettre l'hypothèse suivante.

Dans le Jura, dans les Préalpes et sur le Plateau, les *Sorex araneus* sont caractérisés par un nombre autosomique de 20, type cytologique que l'on peut considérer comme général pour l'espèce.

En effet, les 9 mâles examinés, les uns par BOVEY, les autres par moi-même, ont été piégés au hasard, dans des localités choisies arbitrairement; or tous possèdent le même nombre diploïde. On peut difficilement admettre que, par chance, nous ayons capturé des individus identiques au sein de populations polymorphes. Une variation chromosomique n'a pas été observée dans ces régions.

Dans les Alpes, vraisemblablement dans des populations localisées, il peut exister un polymorphisme chromosomique dont les caractéristiques et la signification devront être établies.

Les individus à 31 et à 27 chromosomes du col de Bretolet témoignent d'une variation intraspécifique plus étendue encore que celle observée en Grande-Bretagne. Si je suis d'accord avec les Anglais pour fonder ce polymorphisme sur des processus de fusion centrique, il faut remarquer que le classement des autosomes diffère fortement du mien puisqu'ils admettent un N. F. de 36, alors que pour moi, il est égal à 40.

AUTEURS CITÉS

- BOVEY, R. 1949. *Les chromosomes des Chiroptères et des Insectivores*. Rev. suisse Zool., 56: 371-460.
- FORD, C. E., HAMERTON, J. L. et SHARMAN, G. B. 1957. *Chromosome polymorphism in the common shrew*. Nat., 180: 392-393.
- MATTHEY, R. 1953. *Les chromosomes des Muridae*. Rev. suisse Zool., 60: 225-283.
- 1959. *Formules chromosomiques de Muridae et de Spalacidae. La question du polymorphisme chromosomique chez les Mammifères*. Rev. suisse Zool., 66: 175-209.
- SHARMAN, G. B. 1956. *Chromosomes of the common shrew*. Nat., 177: 941-942.
-

N^o 20. **H. Mislin**, Mainz. — Zur Funktionsanalyse des lymphatischen Kaudalherzens beim Aal (*Anguilla anguilla* L.).

Zoologisches Institut der Johannes Gutenberg-Universität Mainz.

Mit Ausnahme der Säugetiere sind in sämtlichen Vertebratengruppen Lymphherzen beschrieben worden. Einzig die coccygealen Lymphherzen der Anuren haben eine systematische experimentalphysiologische Untersuchung ihrer Regulationsmechanismen erhalten. Im Hinblick auf eine vergleichende Physiologie der Lymphmotoren schien es uns richtig, die Verhältnisse bei den niederen Wirbeltieren, den Fischen, mit entsprechenden Methoden zu prüfen. Die Physiologie der Lymphherzen ist zweifellos kompliziert, und das Regulationsproblem nur schrittweise zu lösen, unter gleichzeitiger Berücksichtigung peripherer und zentraler Automatismen. LEEUWENHOEK hat 1695 das Kaudalherz beim Aal entdeckt und als „Höhlen- und Klappenapparat“ beschrieben. Seither haben sich weitere 18 Autoren (Literatur bei POLIMANTI 1912¹) mit dem Lymphherzen bei Fischen beschäftigt. Bereits 1833 hat P. MAYER die spinale Innervation der Lymphherzen beim Aal festgestellt, während POLIMANTI (1912) für die Muraeniden einen tonischen Dauereinfluss auf das Kaudalherz durch das Rückenmark wahrscheinlich machte und für *Conger conger* L. eine nervöse Beeinflussung der peripheren Apparate des Lymphherzens durch ein medulläres Gebiet (Asphyxie-Versuche) annahm. Die vorliegende Arbeit beschränkt sich auf das Problem der Temperaturabhängigkeit der Lymphherzfrequenz, als Vorversuche für die Lokalisierung der lymphatischen Rückenmarkszentren.

Abbildung 1 gibt die Versuchsanordnung für die Temperaturversuche. Das Durchströmungsgefäß ist durch Wände mit durchlochten Gummimembranen unterteilt, durch welche der Aal im Perlonstrumpf durchgestossen wird. Der dem Aal anliegende Gummi isoliert vorteilhaft, so dass die einzelnen Kammern separat mit Wasser von konstanter Temperatur durchströmt werden können. Es besteht somit die Möglichkeit, das Kopfgebiet, das Rumpf-

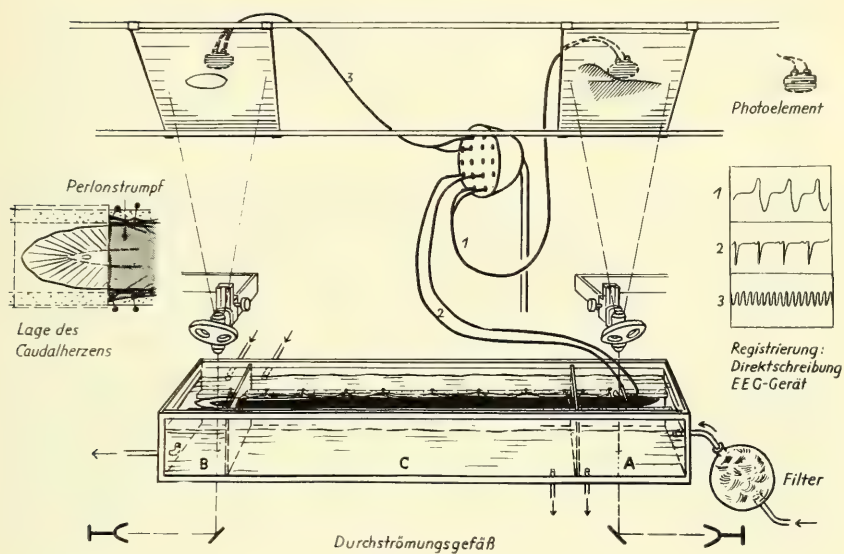
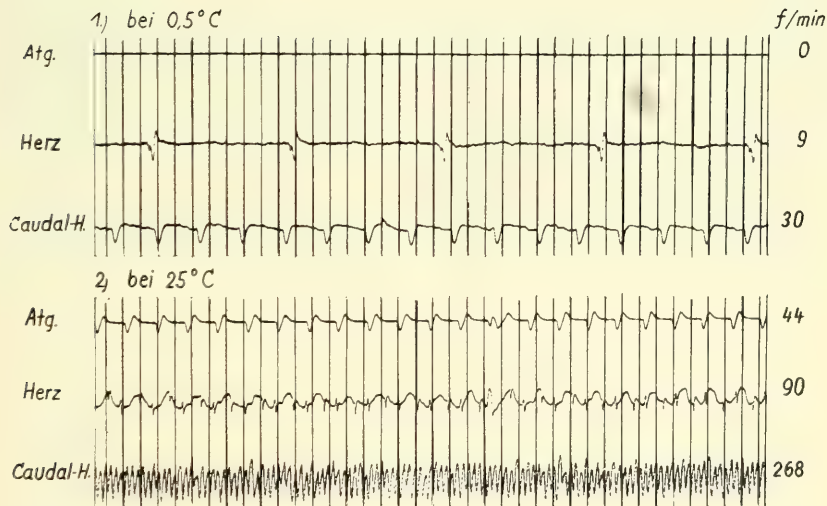


ABB. 1.



Anguilla anguilla L. 55 cm l, $\overline{\text{H}}=1\text{sec}$

ABB. 2.

gebiet oder das Schwanzgebiet unabhängig voneinander einem gewünschten Temperatureinfluss auszusetzen. Die Stilllegung des Aales erfolgt dadurch, dass der Perlonstrumpf an längslaufenden Korkrahmen fixiert ist. Für die objektive Registrierung benutzen

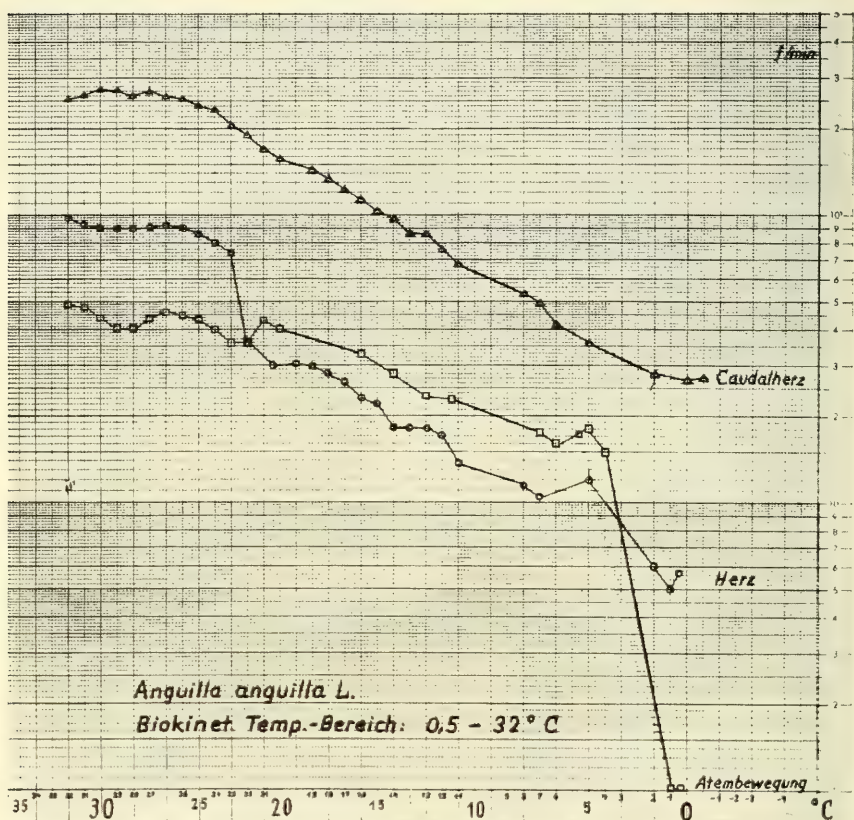


ABB. 3.

wir das EEG-Gerät nach Schwarzer². Das Kaudalherz in der Schwanzflosse, ventral des Urostyls gelegen, wird im durchfallenden Licht über ein schwaches Objektiv auf die Ebene der Photozelle projiziert. Die Atembewegungen werden durch eine entsprechende Schattenprojektion ebenfalls auf einer Photozelle abgebildet, und die induzierten photoelektrischen Stromschwankungen werden von der Direktschreibung aufgezeichnet. Die Herzfrequenz bzw. das

Ekg wird über Unterwasser-Einstichelektroden aufgenommen. Wir erhalten drei synchrone Registrierkurven. (Abb. I, rechts.)

In einer ersten Versuchsserie befindet sich das Ganztier in ein und derselben Temperatur. Es wird somit der biokinetische Temperaturbereich für Atembewegung, Körperherz und Kaudalherzfrequenz von 0° – 34° C bestimmt.

Zweitemperatur-Versuch (Kopf bei konstant 11° C)

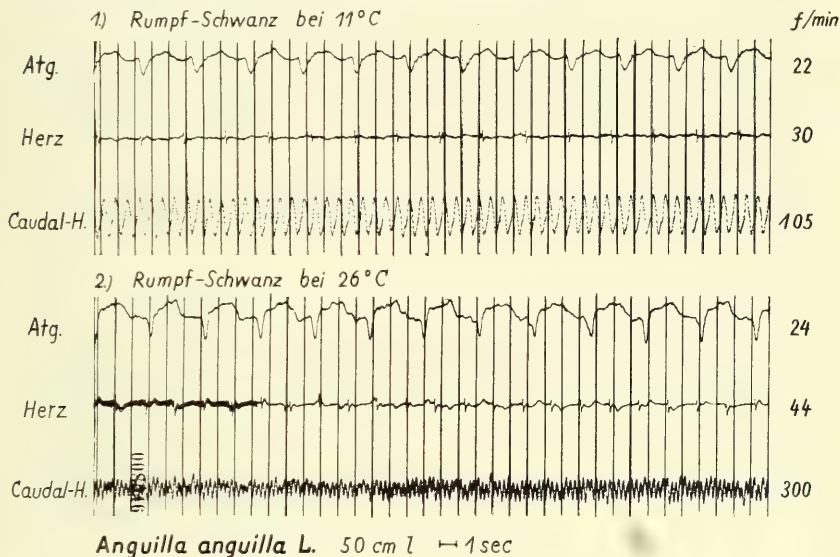


ABB. 4.

Abbildung II zeigt zwei Beispiele für den Einfluss der Temperatur auf Atmung, Körperherz und Kaudalherz. Bei Temperaturen um 0° C sind beim Aal keine Atembewegungen äusserlich sichtbar. Der Vergleich zwischen den Kurven bei 1) und den Kurven bei 2) zeigt die starke Temperaturabhängigkeit der Lymphherzfrequenz. Es werden im Maximum Frequenzen bis zu 380 pro Min. bei 34° C gemessen. Die Grösse des Aales ist ohne Einfluss auf die Frequenz.

Abbildung III zeigt den biokinetischen Temperaturbereich für Atembewegung, Körperherz und Lymphherz in graphischer Darstellung und bei logarithmischer Auftragung der Frequenz in Abhängigkeit von $\frac{1}{T}$ (T = absolute Temperatur in Kelvin Graden.)

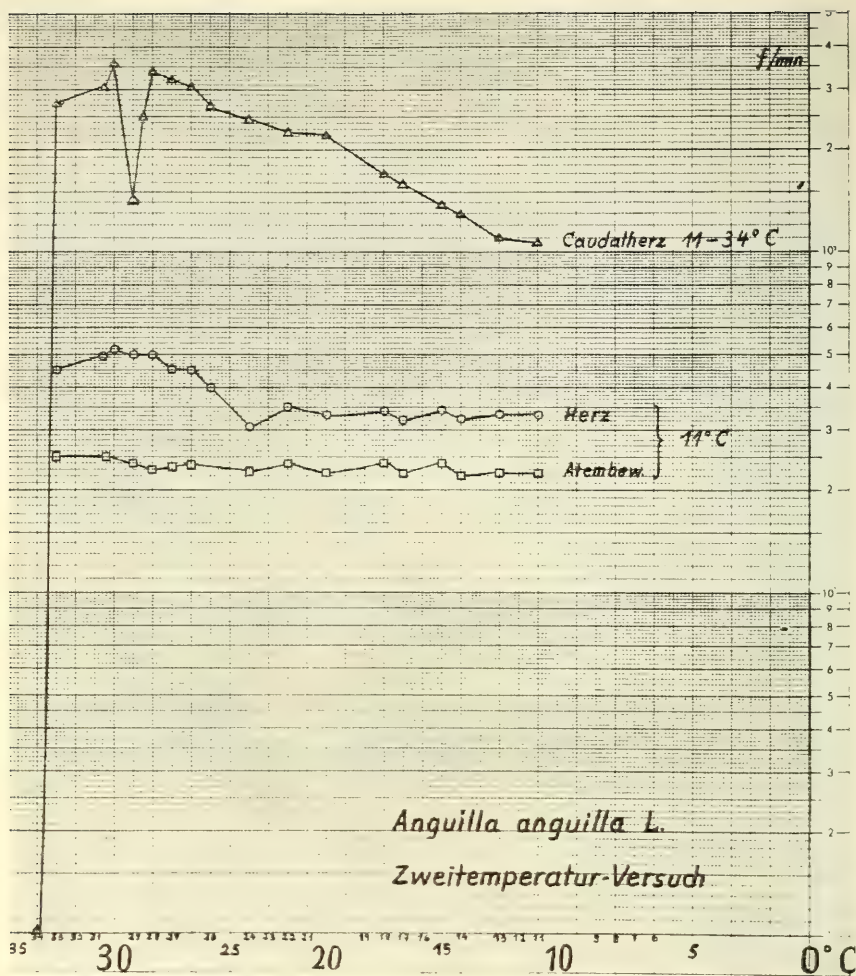


ABB. 5.

Es ergibt sich, dass die Kaudalherzfrequenz von 0° C bis auf 26 und 27° C linear ansteigt, ohne dass in diesem relativ grossen Temperaturbereich Regulationen sich bemerkbar machen. Die Kurve spricht für einen verhältnismässig einfachen und wohl biologisch einheitlichen Vorgang. Eine auffallende Atmungsregulation bei 21° C ist ohne Einfluss auf das Kaudalherz. Die Vorstellung von POLIMANTI, dass ein strenger Parallelismus von Kaudalherztätigkeit und Atmung vorliegt, kann nicht bestätigt werden.

In einer zweiten Versuchsserie wird der Aal dem Einfluss von zwei Temperaturreizen unterworfen. Das Kopfgebiet ragt in die Kammer A ein (vergl. Abb. I) bei einer Wassertemperatur von konstant 11° C. Die Temperatur des Rumpf-Schwanzgebiets wird von 0° auf 34° C erhöht, und zwar gradweise, wobei ein und dieselbe Temperaturstufe jeweils 15—20 Min. konstant bleibt.

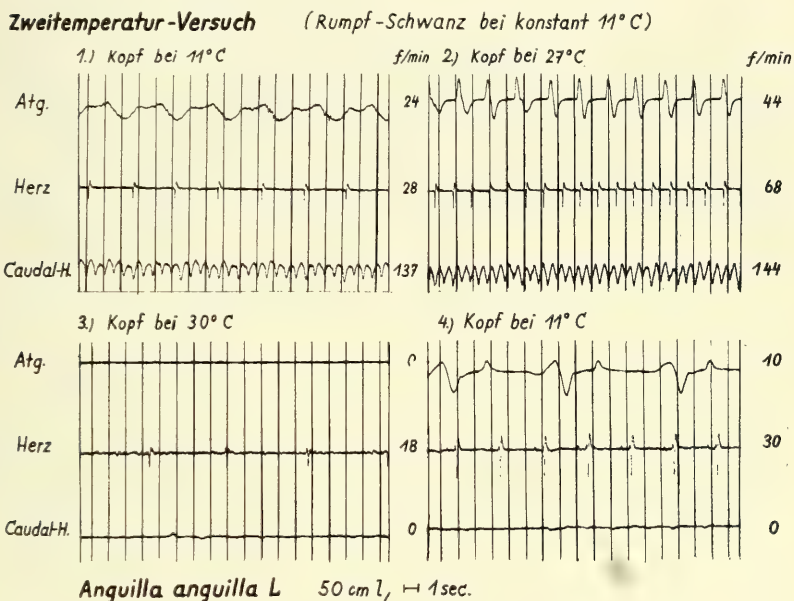


ABB. 6.

Abbildung IV zeigt einen solchen Zweikammer-Temperatur-versuch und lässt erkennen, dass der Anstieg der Atemfrequenz und der Körperherzfrequenz auffallend gering ist, obwohl ja in diesem Versuch der gesamte Rumpf erwärmt worden ist. Deutlich hingegen ist der Anstieg der Kaudalherzfrequenz.

Abbildung V. In der graphischen Darstellung ist zu erkennen, dass das Kaudalherz bei 28° C abfällt, dass aber wieder bei 30° C die höhere Frequenz der linearen Kurve von Abbildung III erreicht wird, um erst bei 31° C bzw. 34° C auf 0 abzufallen. Der Frequenzstillstand wird in der Regel bei 34° oder 35° C für das Kaudalherz erreicht.

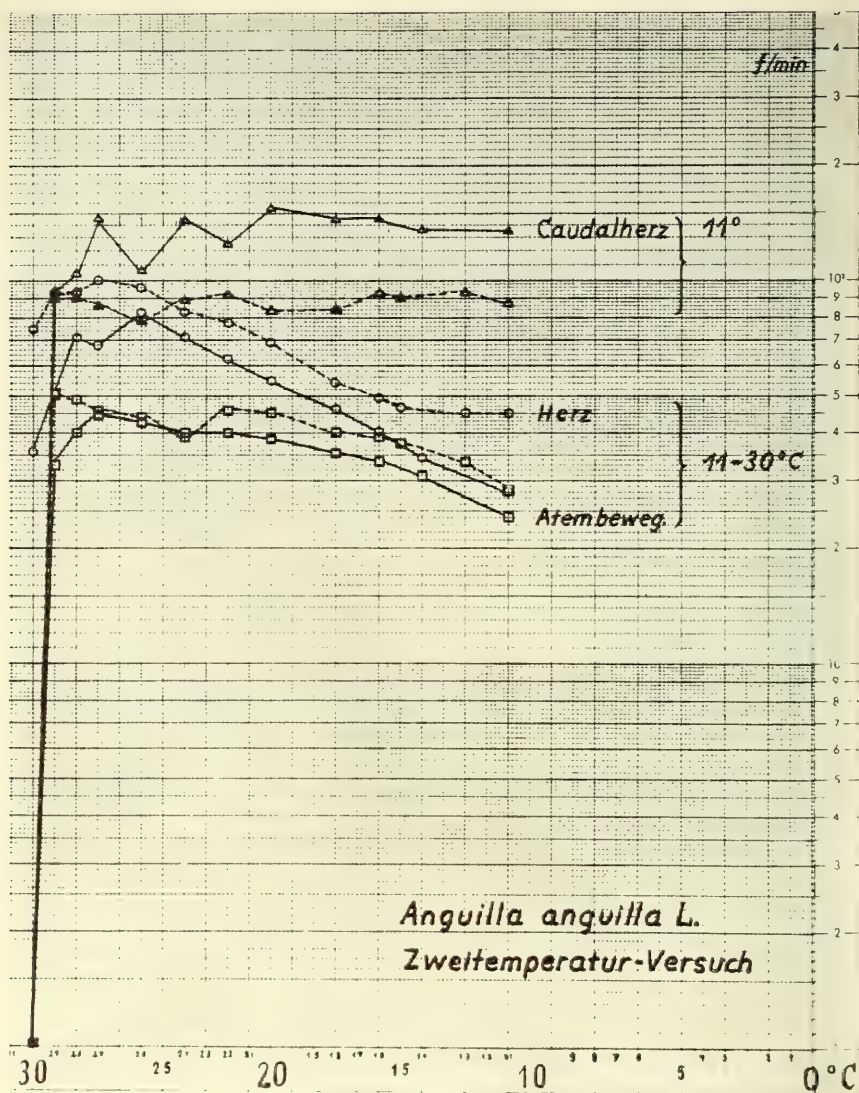


ABB. 7.

In dieser letzten Versuchsserie befindet sich das Rumpf-Schwanzgebiet bei konstanter Temperatur von 11° C, während die Kopfregion den verschiedenen Temperaturreizen ausgesetzt wird (Umkehrung der vorausgegangenen Versuche.)

Abbildung VI. Die Kurven lassen erkennen, dass bei 30° C keine Atembewegungen mehr auftreten; dass auch das Kaudalherz stillsteht (diastolischer Stillstand). Während bei 4) in der Kopfkammer wieder 11° C herrscht, tritt die Atembewegung sehr verlangsamt auf, das Kaudalherz zeigt aber noch keine Pulsation. Es ist also offensichtlich keine Koppelung mit einem medullären Zentrum vorhanden.

Abbildung VII zeigt in graphischer Darstellung das eindeutige Ergebnis, dass -obwohl das Kaudalherz (Rumpf- und Schwanz-region) bei konstant 11° C bleibt- bei 20° C eine deutliche Regulation einsetzt. Herzfrequenz und Atembewegung steigen noch an, während unabhängig davon beim Kaudalherzen Frequenzabfall und Frequenzanstieg als Ausdruck des Eingreifens eines zentralnervösen Mechanismus sichtbar wird.

Mit diesem Zweitemperaturversuch ist bewiesen, dass neben der peripheren Automatie eine zentrale Automatie vorhanden ist, und dass dieselbe der ersteren übergeordnet ist.

In weiteren Versuchen wird die nähere Charakterisierung und Lokalisierung des zentralen Mechanismus vorgenommen.

Besonderen Dank schulde ich meinen Assistenten und Mitarbeitern Frau Dora Rathenow und Herrn W. Kaffrell, sowie der Deutschen Forschungsgemeinschaft für gewährte Unterstützung.

LITERATUR

- MISLIN, H. und HELFER, H. 1957. *Erregungsleitung in der Wand der Flughautvenen (Chireptera-Dreivenenpräparat)*. Rev. Suisse Zool., 64: 311-316.
- POLIMANTI, O. 1912. *Das Kaudalherz der Muraeniden als Exponent der spinalen Erregbarkeit betrachtet*. Zeitschrift für Biologie 59: 171-231. München-Berlin, Verlag R. Oldenbourg.
-

Nº 21. **G. B. Saul 2nd**, Dartmouth / Zurich. — The Occurrence of Fluorescent Substances in the Parasitic Wasp *Mormoniella vitripennis* (Walker).

From the Zoologisch-vergl. anatomisches Institut
of the Universität Zürich¹.

INTRODUCTION.

In recent years the fluorescent substances in *Drosophila melanogaster* of various genotypes have been studied intensively through paper chromatographic methods by HADORN and his co-workers. (See HADORN, 1959, for a review and summary of the literature.) Analyses by VISCONTINI (1955, 1957), FORREST and MITCHELL (1954, 1955), and others have shown that most of these substances are pteridines; in addition, an ultra-violet absorbing substance has been identified as uric acid. Mutant differences in pteridine pattern have been found: *sepia* accumulates sepiapterin (FORREST and MITCHELL, 1954), and *rosy-2* and *maroon-like* are deficient in isoxanthopterin and uric acid, and are non-autonomous in transplants (HADORN and SCHWINCK, 1956; FORREST, GLASSMAN and MITCHELL, 1956). In the latter cases the deficiency is associated with a lack of xanthine dehydrogenase activity (c.f. HADORN, 1959). Following early suggestions that the pteridines are in some way associated with the biosynthesis of the red eye pigment of *Drosophila* (HADORN and MITCHELL, 1951), it has been shown that the red pigments themselves are pteridines (VISCONTINI et al., 1957).

The work of P. W. WHITING and his students has provided an extensive collection of mutant genotypes of the chalcidoid wasp *Mormoniella vitripennis* (Walker). Many of the mutations cause eye color changes from the brown wild type to black, bright or

¹ Science Faculty Fellow of the National Science Foundation (U.S.A.). We wish to thank Prof. E. HADORN for his guidance and suggestions during this study, and Prof. H. K. MITCHELL for his guidance of chemical comparisons of the fluorescing substances.

dark red, light peach, or grey-white shades. (SAUL and KAYHART, 1956). Since these mutants, and physiological studies by ROHNER (1959), suggest that *Mormoniella* eye pigment, like that of *Drosophila*, has red and brown components, it has appeared desirable to apply the techniques developed for *Drosophila* to a study of fluorescent substances in *Mormoniella*. This paper contains the results of experiments designed to provide a foundation for further research.

MATERIAL AND METHODS.

Mormoniella is parasitic on the pupae of various muscoid Diptera, (see WHITING, 1955, for an account of the life cycle). For the present experiments wasps were raised on the Florida blowfly *Sarcophaga bullata* Parker, at a temperature of 21° C. Eggs, and larval and pupal stages, can be recovered easily by breaking open the puparium of the host and brushing desired specimens from the surface of the host pupa.

Individuals to be used for chromatography were homogenized in small centrifuge tubes, and about 1 ml of 80% methanol or a mixture consisting of 4 parts of n-propanol to 3 parts of 2% aqueous NH_3 was added to the tubes for extraction of fluorescent substances. Following extraction for about 2 hours in darkness at 20° C, the solutions were centrifuged and the supernatant was spotted or streaked on Whatman No. 1 filter paper. This method was found to be superior to crushing the wasps directly on the filter paper, due to the low concentrations of some of the fluorescent substances. Between 5 and 10 insects per spot were sufficient for single-dimension chromatograms; 25 per spot were used for two-dimensional types. Sheets of filter paper 15 cm \times 28 cm were used for single-dimension chromatograms; two-dimensional chromatograms were on 23 cm \times 28 cm sheets. *Drosophila* used for comparison with *Mormoniella* were subjected to the same extraction and chromatographic procedures.

Dissections were made in Holtfreter's solution, and the separate organs were crushed directly on the filter paper. Larvae were washed in 80% methanol for one minute before dissection; digestive tracts and associated structures bulged through holes ripped in the larvae and could be easily pulled free of other tissues.

Chromatograms were of the ascending type, and were developed in a solvent mixture consisting of 4 parts of n-propanol to 3 parts of 2% aqueous NH_3 (P-A) or in a mixture of 20 parts of n-butanol: 3 parts of glacial acetic acid: 14 parts of water (B-A). One-dimensional chromatograms were developed for three hours at 25° C; two-dimensional chromatograms for 9-14 hours at 20° C. Wider separation of spots on one-dimensional chromatograms could be obtained, when desired, by re-developing in the same solvent following drying. During this process, as during extraction, the material was kept from intense light. Preliminary experiments conducted in the dark revealed no chromatographic changes resulting from subdued light.

Fluorescent spots were observed under an ultra-violet scanning lamp (principal emission at 3600 Å); absorbing spots were found by use of another lamp with emission at 2537 Å. Measurements of fluorescence were obtained by cutting spots from the chromatograms and inserting each in a system consisting basically of an ultra-violet source, a filter, a photocell, and a galvanometer. Galvanometer readings gave comparative measures of fluorescence as detected by the photocell. This system, described by HADORN and KÜHN (1953), does not record differences in color of fluorescence.

Absorption spectra were read from a Beckman spectrophotometer, using quartz cells and an ultra-violet light source. Strips containing fluorescent substances were cut from one-dimensional chromatograms developed in P-A and were eluted from the strips with water. In some cases the water solutions were re-streaked on filter paper and developed in 20% acetic acid for further purification, and were then eluted again with water. Absorption readings were made at 10 m μ intervals except near peaks, where intervals were reduced to 1 m μ .

INVENTORY OF SUBSTANCES.

Figure I shows a sample two-dimensional ascending chromatogram prepared from 25 *Mormoniella* males. Extraction was in P-A; P-A was used for the first dimension (14 hours at 20° C) and B-A was used for the second dimension (8 hours at 20° C). On

the right side of the figure is represented a one-dimensional chromatogram prepared from 10 *Drosophila* males and developed in P-A with the *Mormoniella* chromatogram. The following is a summary of observed characteristics of spots derived from the *Mormoniella* (see also table 1).

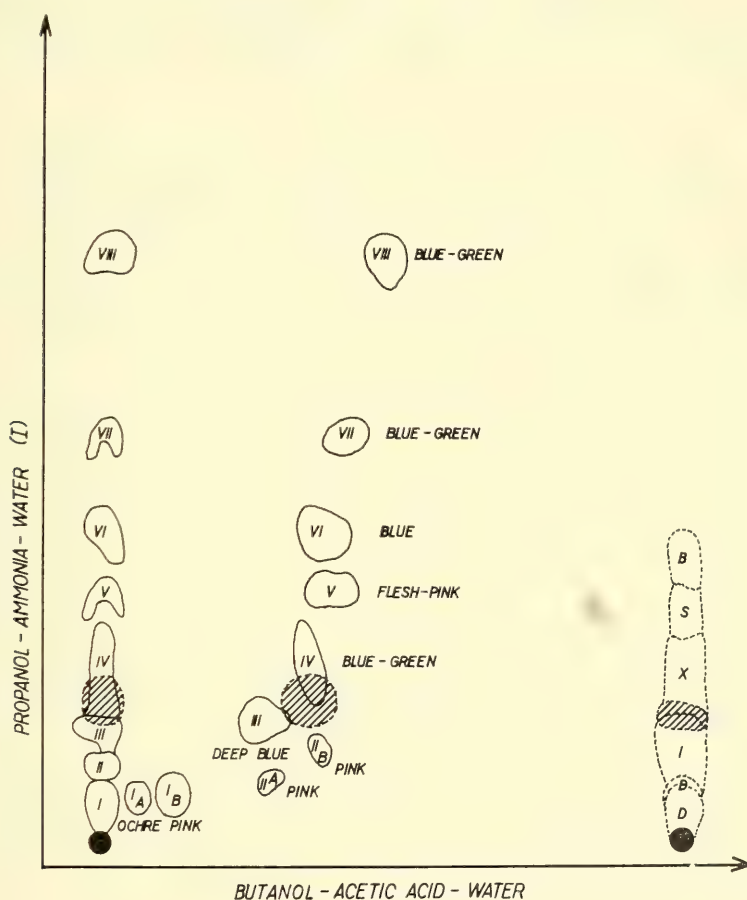


FIGURE I.

Sample chromatograms of fluorescent substances in adult male wild type *Mormoniella* and *Drosophila*. Left column: single dimension in P-A (*Mormoniella*). Center: P-A followed by B-A (*Mormoniella*). Right column: single dimension in P-A (*Drosophila melanogaster*). Shaded areas absorb ultra-violet light. Initial spots contained extracts from 25 *Mormoniella* and 10 *Drosophila*, respectively. D = Drosopherins; X = Xanthopterin; I = Isoxanthopterin; S = Sepiapterin; upper B = HB¹ and HB².

Ia, Ib. (Ocher) On one-dimensional P-A chromatograms these appear as a single spot, yellow in visible light and fluorescing yellow in ultra-violet light. In B-A two spots appear; one (Ia) yellow in visible light and fluorescing yellow, the other (Ib) fluorescing light red. Rf values are in table 1.

IIa, IIb. (Pink) On one-dimensional P-A chromatograms these are poorly separated from Ia and Ib; in B-A following P-A they separate into two spots fluorescing light red. Rf values are in table 1.

III. This appears as a deep blue fluorescence, similar to that of isoxanthopterin. Rf values (table 1) also resemble those of isoxanthopterin spots from *Drosophila* controls (see figure I). Absorption curves in 0.1N HCl show a peak at 281 m μ and a plateau from 325-340 m μ ; in 0.1 NaOH a peak appears at 255 m μ and a plateau from 330-340 m μ . These curves resemble those published for isoxanthopterin (VisCONTINI et al., 1955); apparently *Mormoniella* belongs among the arthropods containing this pteridine.

IV. This appears as a very faint blue-green fluorescence; on many chromatograms it does not appear at all. Its color and Rf values (table 1) suggest those of the xanthopterin spots from *Drosophila* controls (see figure I), but attempts to obtain it in quantities sufficient for absorption spectra have not yet been successful.

V. (Flesh Pink) This highly striking substance, yellow-pink in fluorescent color, does not appear in *Drosophila*. Rf values are shown in table 1. Absorption curves, following elution from P-A chromatograms, re-streaking, and development with 20% acetic acid, showed sharp peaks at 257 and 353 m μ in 0.1N HCl and at 265 and 365 m μ in 0.1N NaOH. Flesh Pink (FP) appears in the larval intestine, but not in chromatographically detectable amounts in other larval organs; it is egested with the feces at pupation. It subsequently reappears in pupal tissues.

VI. This spot, probably composed of more than one substance, fluoresces light blue. Rf values in P-A and B-A (table 1) and in 20% acetic acid (0.70), as well as its fluorescent color, resemble those of 2-amino-4-hydroxypteridine from *Drosophila* controls (see figure I). Absorption curves, however, show only two peaks: one at 245 m μ in 0.1N HCl and one at 253 m μ in 0.1N NaOH.

Since a compound having these peaks and low absorption above 300 m μ is not likely to fluoresce strongly under a 3600 Å lamp, these data are tentatively interpreted to mean that spot VI contains at least 2-amino-4-hydroxypteridine in low concentration and an unknown substance, in high concentration, which does not fluoresce but has the same Rf values as the pteridine in P-A and 20% acetic acid. Absorption curves for 2-amino-4-hydroxypteridine have been published by VISCONTINI et al. (1955) and by MITCHELL and FORREST (1955).

TABLE 1

Observed characteristics of fluorescent substances on chromatograms prepared from adult wild type Mormoniella

Rf values are averaged from five chromatograms, one of which is shown in FIGURE I.

Substance	Visible Color	Fluorescent Color	Where Present	Approximate Rf	
				P - A	B - A
I <i>a</i> I <i>b</i>	yellow	yellow	Heads with colored eyes	0,06 0,06	0,10 0,05
II <i>a</i> II <i>b</i>	—	red	same as I <i>a</i> , <i>b</i>	0,07 0,11	0,25 0,33
III	—	deep blue	prepupae-adult	0,15	0,34
IV	—	blue-green	prepupae-adult	0,21	0,31
V	—	flesh-pink	larvae feces pupal+adult tissue	0,31	0,38
VI	—	light due	prepupae-adult	0,38	0,35
VII	—	blue-green	same as V	0,50	0,38
VIII	—	blue-green	same as V	0,73	0,44

VII (PIB-1) and VIII (PIB-u). These spots fluoresce blue-green, but only after exposure to ultra-violet light; after such exposure they no longer move in P-A or B-A. Rf values are given in table 1. Absorption peaks in acid and alkali have not yet been obtained. These substances are not found in *Drosophila*. Like FP

they appear in and are egested from the larval digestive system, and reappear in the pupal body. Also like FP, they have not been detected chromatographically in larval tissues. V, VII, and VIII can be collected in quantity by soaking host remains in P-A after the wasps have pupated and been removed. They do not appear in fresh, unparasitized host pupae, but V can be detected in trace amounts on chromatograms prepared from old, dried, unparasitized hosts soaked for 24 hours in P-A. They are not present in fresh hosts stung by *Mormoniella* the eggs of which were removed before hatching.

In addition to the fluorescing spots, an ultra-violet absorbing spot with an Rf of about 0.20 in P-A and absorption peaks at 285 m μ in 0.1N HCl and 295 m μ in 0.1N NaOH, was found. These properties suggest that the spot may contain uric acid.

Finally, data accumulated by Mr. DENNIS BARRETT indicate that adult *Mormoniella* contain xanthine dehydrogenase. Wasps were homogenized in 0.1M TRIS buffer at pH 8.4, pteridines were absorbed from the homogenate with charcoal, and the homogenate was incubated at 21° C with 2-amino-4-hydroxypteridine and Methyl Blue. Aliquots were chromatogrammed at several time intervals; examination revealed increasing amounts of isoxanthopterin formed, coincident with decreased amounts of 2-amino-4-hydroxypteridine. The specific activity, calculated from a single set of data, was 15 μ moles/hr. gm. prot. N.

CHARACTERISTICS DURING DEVELOPMENT.

The low concentrations of several of the fluorescing compounds have made reliable estimates of changes in concentration difficult. Some variations can be expressed in a semi-quantitative manner, however. For this comparison 2,4, and 9 day old larvae were used, together with prepupae (about 12 days old at 21° C), white-eyed pupae (13 days old), red-eyed pupae with no dark body pigment (14 days old), pupae with dark thoraces but light abdomens (15 days old), completely darkened pupae (16 days old), and young adults (about 18 days old). Comparable stages can be reached in fewer days at higher temperatures; at 28° C prepupae form in about 6 days and adults eclose in about 11 days.

No fluorescing substances could be detected chromatographically in larval tissues that remained after the digestive tract had been removed. The presence of V, VII, and VIII in the digestive tract has been described in the previous section; the

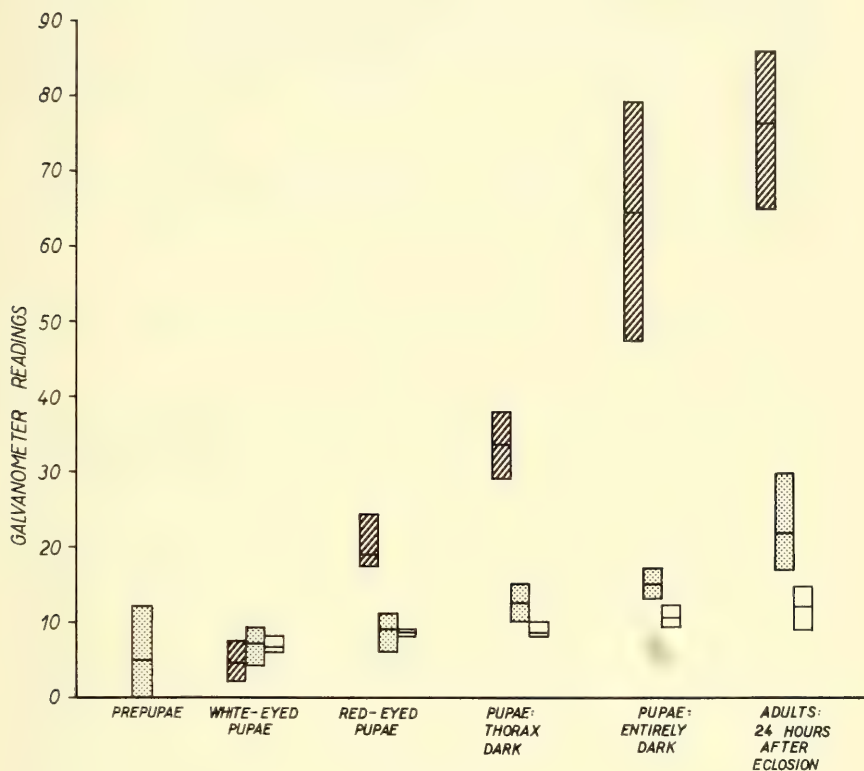


FIGURE II.

Intensity of fluorescence of spots from various developmental stages of *Moroniella*. Striped areas: spots I and II. Dotted areas: spot III. White area: spot IV. Lengths of areas show ranges of readings from 5 spots (5 wasps per spot) horizontal lines within areas show averages of the readings.

amounts of these increased with increasing larval age, and were detectable in larvae two days after eggs were laid. Due to the extreme fragility of the wall of the digestive tract, it has not been possible to wash it free of the contents of the lumen; the question of where these larval fluorescing substances are formed therefore remains unanswered. The dissection leaves some glands, such

as the salivaries, firmly attached to the outer walls of the digestive tract; again, attempts to remove these resulted in destruction of the walls and contamination of all structures by the large amount of fecal material.

Substances III-VIII could be detected chromatographically in non-digestive tissues from the prepupal stage through adulthood. The complex including I and II first appeared in white-eyed pupae. Galvanometric measurements of (I and II), III, and IV appear in figure II; it can be seen that all increase through pupal stages and reach maximum concentrations in adults. The other substances do not increase significantly with increasing age of the pupae.

LOCALIZATION IN SPECIFIC ORGANS AND TISSUES.

Again, quantitative determinations are difficult due to the low concentrations of some of the substances. In table 2, classification is on the basis of whether the substance is chromatographically undetectable (—), present in trace concentrations, (+), or present in higher concentrations (++).

The table shows that I and II are in the head only, perhaps due to a relation to the red component of the eye pigments. III is in all body regions, although only in trace amounts in the thorax. IV and VI can be detected chromatographically only in the abdomens, and in trace amounts there. V, VII, and VIII can be detected in the abdomens, but not in heads and thoraces. No fluorescing substances were found in testes or ovaries (ten per spot), but traces of all except I and II are in the fine, fragile Malpighian tubes.

PATTERN IN MUTANTS (FRESHLY HATCHED IMAGOS).

Although quantitative data are not complete, qualitative studies on 9 red eyed mutants and 4 mutants with eye colors approaching white show no spots not present in wild type. They also show no great accumulations of substances, nor do they lack any spots present in wild type. In all of these mutants the concentration of V, VII, and VIII is somewhat higher than in wild type.

It is noteworthy that the concentration of the I-II complex is not greatly lowered.

In black eyed mutants, presumably lacking at least some of the red component of the wild type pigment, the concentrations of all the fluorescent substances are somewhat lower than in wild type. In one mutant, *black*, (SAUL and KAYHART, 1956), I and II are lacking and III and VI accumulate; larval patterns are unchanged.

TABLE 2

*Amounts of fluorescent substances in adult Mormoniella,
as detected chromatographically.*

(—) = not detectable; (+) = detectable in trace amounts; (++) = detectable in higher concentrations.

Substance	Head	Thorax	Abdomen	Testes	Ovaries	Malpighian Tubes
I a, b	++	—	—	—	—	—
II a, b	++	—	—	—	—	+
III	++	+	++	—	—	+
IV	—	—	+	—	—	+
V	—	—	++	—	—	+
VI	—	—	+	—	—	+
VII	—	—	++	—	—	+
VIII	—	—	++	—	—	+

Summary.

Paper chromatography of extracts from various developmental stages of *Mormoniella* has revealed 8 major fluorescent spots and a large ultra-violet absorbing spot. Fluorescent colors, Rf values, and absorption peaks are given; comparisons with known pteridines in *Drosophila* suggest that *Mormoniella* contains isoxanthopterin, xanthopterin, 2-amino-4-hydroxypteridine, and uric acid; the three remaining spots are not comparable with any known in *Drosophila*.

Three substances can be detected in intestinal contents of larvae and in non-intestinal tissue of prepupae, pupae, and adults, but not in larval stages. The other substances appear in young pupae; most increase in quantity through eclosion. With the exception of two classes of substances which are localized in the heads, no major accumulations of fluorescent materials were found in any organs studied. No major sex differences in types or quantities of the substances were found.

Results of preliminary surveys of mutant types show that only one mutant, *black*, differs greatly from wild type. This lacks two substances normally found in wild type heads and accumulates what may be isoxanthopterin and 2-amino-4-hydroxy-pteridine.

REFERENCES

- FORREST, H. S., E. GLASSMAN, and H. K. MITCHELL. 1956. *Conversion of 2-amino-4-hydroxypteridine to isoxanthopterin in D. melanogaster*. Science 124, 725-726.
- and H. K. MITCHELL. 1954. *Pteridines from Drosophila. I. Isolation of a yellow pigment*. J. Amer. Chem. Soc. 76: 5656-5658.
- — 1954. *Pteridines from Drosophila. II. Structure of the yellow pigment*. J. Amer. Chem. Soc. 76: 5658-5662.
- HADORN, E. 1959. *Contribution to the physiological and biochemical genetics of pteridines and pigments in insects*. Proc. X Int. Cong. Genetics I., 337-354.
- and A. KÜHN. 1953. *Chromatographische und fluorometrische Untersuchungen zur biochemischen Polyphänie von Augenfarb-Genen bei Ephestia kühniella*. Z. Naturforschung, 8: 582-589.
- and H. K. MITCHELL. 1951. *Properties of mutants of Drosophila melanogaster and changes during development as revealed by paper chromatography*. Proc. Nat. Acad. Sci. 37: 650-665.
- and I. SCHWINCK. 1956. *Fehlen von Isoxanthopterin und nicht-Autonomie in der Bildung der roten Augenpigmente bei einer Mutante (Rosy²) von Drosophila melanogaster*. Z. Vererbungslehre 87: 528-553.
- MITCHELL, H. K. and H. S. FORREST. 1955. *Pteridines from Drosophila. III. Isolation and identification of three more pteridines*. J. Amer. Chem. Soc. 77: 4865-4869.

- ROHNER, Sister M. C. 1959. *The influence of depression of respiratory metabolism by carbon monoxide on pigment development in the insect eye*. Z. Vererbungslehre 90: 257-262.
- SAUL, G. B. and M. KAYHART. 1956. *Mutants and linkage in Mormoniella*. Genetics. 41: 930-937.
- VISCONTINI, M., E. HADORN and P. KARRER. 1957. *Fluoreszierende Stoffe aus Drosophila melanogaster: die roten Augenfarbstoffe*. Helv. chim. Acta 40: 579-585.
- M. SCHOLLER, E. LOESER, P. KARRER and E. HADORN. 1955. *Isolierung fluoreszierender Stoffe aus Drosophila melanogaster*. Helv. chim. Acta 38: 397-401.
- WHITING, P. W. 1955. *A parasitic wasp and its host for genetics instruction and for biology courses*. Carolina Tips 18: 13-16.

N^o 22. **R. Schloeth**, Zerneß, **K. Klingler**, Bern, und **D. Burckhardt**, Basel. — Markierung von Rotwild in der Umgebung des Schweizerischen Nationalparks ¹. Mit 2 Abbildungen.

1951 wurden die Untersuchungen des Grosswildes im Schweizerischen Nationalpark im Unterengadin neu aufgenommen und ökologische Fragen in den Vordergrund gestellt. Nach einer ersten Untersuchungsperiode, die das Herausschälen der verschiedenen Probleme auf breiter Basis zum Ziele hatte, drängte sich eine Konzentration der Untersuchungen auf eine Tierart auf. Aus praktischen Erwägungen fiel die Wahl auf das Rotwild, um damit dringend nötige biologische Grundlagen zur Lösung des „Hirschproblem“ (BURCKHARDT 1957, 1958, 1959) beizusteuern. Wir sind der Auffassung, dass neben Fragen der Ernährung, der Populationsdynamik usw., in erster Linie eine gründliche Kenntnis des Verhaltens des Rotwildes, vor allem auch des Sozialverhaltens, den Schlüssel zur Lösung des „Hirschproblem“ bildet. Dazu ist aber

¹ Ausgeführt mit Unterstützung des Schweiz. Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung.

ein individuelles Erkennen einzelner Tiere unentbehrlich. In der vorliegenden Mitteilung sollen die bisherigen Erfahrungen über Fang und Markierung kurz zusammengefasst werden.

Unter der Mitwirkung der Eidgenössischen Nationalparkkommission und ihrer Organe, der Abteilung für Wild- und Fischkrankheiten des Vet.-Bakt. Institutes der Universität Bern und einzelner Mitarbeiter der wissenschaftlichen Nationalparkkommission erfolgten während des Winters 1959/60 zahlreiche Versuche zur Ermittlung einer wirksamen Methode der Markierung von Hirschen in den Wintereinständen der Umgebung des Nationalparks. Auf Grund der gewonnenen Erfahrungen kann künftig mit Erfolg an der Markierung weiter gearbeitet werden. Allen denjenigen, die uns ihre wertvolle Mithilfe zukommen liessen, besonders dem Präsidenten der wissenschaftlichen Nationalparkkommission, Herrn Prof. J. G. Baer, Neuchâtel, und dem Präsidenten der zoologischen Subkommission, Herrn Prof. P. Bovey, Zürich, sei an dieser Stelle unser Dank ausgesprochen.

ZWECK DER MARKIERUNG

Die Erforschung der Lebensweise, insbesondere des Soziallebens, unseres Rotwildes erfordert die objektive Unterscheidung klar erkennbarer Individuen über eine längere Zeitspanne. Das bedingt eine individuelle Kennzeichnung des Einzeltieres. Erst dadurch wird es möglich, das Studium einzelner Probleme in einer Art und Weise zu führen, die auf einer exakten Grundlage aufbaut und subjektive Zufälligkeiten der Beobachtung weitgehend ausschliesst. In unserem Untersuchungsgebiet mit einem hohen Hirschbestand und weiträumigen Wanderungen der einzelnen Tiere gilt das in besonderem Masse. Folgende drei Fragen, die nur mit Hilfe markierter Tiere gelöst werden können, stehen im Vordergrund;

1. Sozialleben. Die soziale Rolle und die soziale Aktivität des Einzeltieres im Verband; die Konstanz der Vergesellschaftung; die Intensität des Zusammenlebens.

2. Wanderungen, Ortstreue und Abwanderung. Frühlings- und Herbstwanderungen, Sommer- und Winterstandorte, Ortstreue im Sommer- oder Wintereinstand, Abwanderung einzelner Tiere in neue Gebiete.

3. Lebenserwartung und Sterblichkeit. Berechnung der Lebenserwartung, der Sterblichkeit und des Höchstalters auf Grund von Rückmeldungen tot oder lebend aufgefundener markierter Tiere.

METHODE DES ZEICHNENS

Vor nicht langer Zeit waren als Hilfsmittel der Kennzeichnung (sog. Wildmarkentiere) nur Ohrmarken, Zinken der Ohren (Einkerbungen in die Ohrmuschel) und das Beachten von natürlichen Unterscheidungsmerkmalen (Deformationen, Färbung, Geweih usw) üblich. Gegen zwei Jahrzehnte sind es her, seit jedoch in den U.S.A. weit auffälligere und somit wirksamere Mittel des Markierens



ABB. 1.

Schematische Darstellung des Lederhalsbandes mit einigen der verwendeten Muster.

systematisch angewandt wurden: Brennen, Färben des Felles, u. a. auch durch in Farbe getauchte Pfeile (vgl. ALTMANN, 1952), Anstreifen von Halsbändern aus Leder oder Plastic mit aus Plastic-Farben, Leder- oder Reflektiv-Farben zusammengestellten Mustern (z. B. PROGULSKE, 1957) oder schliesslich gar Umhängen von kleinen Glocken an schmalen Halsbändern (TAYLOR 1947).

Wir entschlossen uns, eine Kombination zweier Methoden bei unseren Hirschen anzuwenden. Jedes gefangene Tier erhält mindestens eine Ohrmarke eines einheitlichen Typus. Die erwachsenen Hirschkuhe werden ausserdem mit einem 6½ cm breiten Lederhalsband¹ versehen, auf welches ein weithin gut unterscheidbares Muster aufgemalt ist (Abb. 1). Dieses Muster ist mit einem Feld-

¹ Die Halsbänder wurden von der Firma Dändliker und Hotz, Thalwil, hergestellt und uns mit den Farben geschenkweise überlassen, wofür wir den besten Dank aussprechen möchten.

stecher 10 \times auf 500 m Distanz, mit einem Fernrohr 30 \times auf 2 km Distanz erkennbar. Der Einwand, derart gezeichnete Tiere könnten mit dem Band an Zweigen hängenbleiben, wird dadurch entkräftet, dass weder in den zahlreichen amerikanischen, noch in unsern Versuchen bis jetzt derartige Unfälle aufgetreten sind.

DER FANG

Voraussetzung für das Markieren ist das Einfangen gesunder Wildtiere der gewünschten Art. Hierzu stehen uns mehrere Methoden zur Verfügung: 1. Fang mit Stellnetzen. 2. Fang mit Fallen. 3. Das Einbringen von im Winter erschöpft aufgefundenen Tieren. 4. Aufsuchen von neugeborenen Kälbern. 5. Narkose auf Distanz.

Ausser der erstgenannten Fangmethode wurden von uns bis jetzt alle aufgezählten angewendet, mit dem Ziel, eine möglichst wirksame Fangart zu ermitteln, die Gewähr bietet, dass die gefangenen Tiere nicht verletzt und dadurch die späteren Reaktionen gestört werden. Mehrere Versuche wurden vor allen Dingen mit dem amerikanischen Cap-Chur-Equipment angestellt, einem mit CO₂-Druck kleine Injektionsspritzen auf kurze Distanz verschossenen Gewehr. Die Narkose auf Distanz kam bis jetzt hauptsächlich mit Hilfe von Curare-Präparaten (Flaxedil) durch HALL et al. (1953) oder Nikotin-Präparaten (CROCKFORD et al., 1957) zur Anwendung. Erschwerende Umstände, wie reaktions-spezifische Unterschiede, ferner auch zerklüftetes Gebiet, Schnee, Kälte, verhinderten bis heute einen eindeutigen Erfolg unserer Versuche zum Fang mit Hilfe des Narkose-Gewehres an den eigens zu diesem Zwecke eingerichteten Anlock-Futterstellen¹.

Parallel zu den Narkose-Versuchen führten wir jedoch an den gleichen Futterstellen auch Fangversuche mit Fallen durch, welche nach dem Prinzip des Selbstauslösers gebaut wurden, z. T. nach Vorbildern von TASSEL (1958), z. T. nach eigener Konstruktion unter der Mithilfe von A. FILLI, Zerne (Abb. 2). Den sich über Nacht in der Falle gefangenen Hirschen wurde mit niedrigem Druck eine Schuss-Injektion eines Tranquilizers verabreicht, ohne dass die Tiere unter den Folgen einer Narkose zu leiden hatten. Ein

¹ Eine Publikation über die gemachten Erfahrungen hinsichtlich der verwendeten Narkotika und ihres Einflusses auf die Versuchstiere durch K. KLINGLER ist in Vorbereitung.

Nachteil dieser Methode liegt im relativ häufigen Wiederfang bereits markierter Tiere. Eine Hirschkuh wurde bis jetzt 6 mal wieder-gefangen, da sie als starkes Tier den übrigen den Eingang zur Falle versperrt.



Abb. 2.

45 Minuten nach der Schuss-Injektion verlässt die mit Halsband und Ohrmarke gezeichnete Hirschkuh Nr. 3 die eben geöffnete Kastenfalle auf Munt Baselgia.

Zur Erprobung der eigentlichen Narkose-Mittel für hiesige Verhältnisse versuchten wir schliesslich, Hirsche in grösseren Scheunen zu fangen, um den von der fliegenden Spritze getroffenen Tieren das Entkommen in unzugängliches, für die in diesem Zustande fliehenden Tiere gefährliches Gelände, zu verunmöglichen. Gleichzeitig konnten sie von Anfang an unter genauer Kontrolle hinsichtlich des Einsetzens der Reaktion gehalten werden. Es scheint, dass diese Methode die zahlenmässig besten Ergebnisse zu liefern imstande ist.

Unsere Markierungs-Aktion hat bis zum 30. April 1960 folgende Ergebnisse gezeitigt:

1. Narkose auf Distanz: keine
2. Fang und Markierung in Kastenfallen: 5 Hirschkühe (2 in Falle 1; 3 in Falle 2; 9 Wiederfänge).
3. Fang und Markierung in der Scheune: 2 Hirschkühe (unter vollständiger Inaktivierung durch Flaxedil beziehungsweise Nikotinbase).
4. Markierung von erschöpft aufgefundenen, in Ställen gepflegten Tieren: 8 Hirschkühe (Bänder und Ohrmarken); 12 Hirschkälber und 4 männliche Hirsche (nur Ohrmarken).

Alle unter 2. und 3. aufgezählten Hirschkühe konnten nach der Markierung mindestens einmal wieder beobachtet werden.

LITERATUR

- ALTMANN, M. 1952. *Social behaviour of the Elk (Cervus canadensis nelsoni) in the Jackson Hole Area of Wyoming*. Behaviour 4: 116-143.
- BURCKHARDT, D. 1957. *Über das Wintersterben der Hirsche in der Umgebung des Nationalparkes*. Schweizer Naturschutz 23: 1-5.
- 1958. *Observations sur la vie sociale du cerf (Cervus elaphus) au Parc National Suisse*. Mammalia 22: 226-244.
- 1959. *Über die biologischen Ursachen der Wildschäden im Wald*. Schweiz. Ztsch. f. Forstwiss. 110: 598-616.
- CROCKFORD, J. A., F. A. HAYES, J. H. JENKINS und S. D. FEURT. 1957. *Nicotine Salicylate for capturing deer*. Jl. Wildl. Managem. 21: 213-220.
- HALL, T. C., E. B. TAFT, W. H. BAKER und J. C. AUB. 1953. *A preliminary report on the use of flaxedil to produce paralysis in the white-tailed deer*. Jl. Wildl. Managem. 17: 516-520.
- PROGULSKE, D. R. 1957. *A collar for identification of Big Game*. Jl. Wildl. Managem. 21: 251-252.
- TASSEL, P. 1958. *La Réserve Nationale de la Petite-Pierre*. Bull. Spéc. Conseil Sup. de la Chasse, 4: 1-30.
- TAYLOR, W. P. 1947. *Some new techniques—hoofed mammals*. Trans. N. Americ. Wildl. Conf. 12: 293-324.

N^o 23. **Hans Ulrich**, Zürich. — Die Beziehung zwischen Strahlendosis und Mutationsrate bei Röntgenbestrahlung von *Drosophila*-Zygoten¹ (Mit 3 Textabbildungen.)

Zoologisches Institut der E.T.H.

Bald nachdem H. J. MULLER (1927) bei *Drosophila* die mutationsauslösende Wirkung der Röntgenstrahlen entdeckt hatte, wurde festgestellt (OLIVER 1930, u. a.), dass die Häufigkeit der strahleninduzierten Mutationen linear mit der applizierten Dosis ansteigt. Die dabei benutzte und seither in strahlen genetischen Versuchen besonders häufig verwendete Methode war, adulte *Drosophila*-♂♂ zu bestrahlen und sodann mittels geeigneter Kreuzung die in ihren Keimzellen ausgelösten rezessiv-geschlechtsgebundenen Letalfaktoren zu erfassen.

Die festgestellte lineare Beziehung zwischen Strahlendosis und Mutationsrate ist theoretisch und praktisch höchst bedeutungsvoll. Sowohl der Befund selbst als auch seine Deutung wurden besonders in letzter Zeit verschiedentlich kritisiert. Bedenken ergaben sich vor allem aus der Tatsache, dass die bei der üblichen Bestrahlung von *Drosophila*-♂♂ bestrahlten Keimzellen hinsichtlich ihres Entwicklungsstadiums, und damit bezüglich ihrer Strahlenempfindlichkeit heterogen sind. Auf eine solche Heterogenität und ihre Folgen wurden auch experimentell gefundene Abweichungen von der linearen Dosisabhängigkeit der Mutationsrate zurückgeführt (MULLER u. Mitarb. 1954).

Angesichts der Bedeutung der Frage schien es uns angezeigt, die Beziehung zwischen Strahlendosis und Mutationsrate erneut eingehend zu prüfen, und zwar mit Hilfe der von uns ausgearbeiteten Methode der Zygotenbestrahlung von *Drosophila*, die gegenüber der herkömmlichen Fliegenbestrahlung gewisse Vorteile bietet. Zu erwähnen ist namentlich, dass das bestrahlte Zygoten-Material homogener ist, dass wir die Anzahl der bestrahlten Zygoten genau

¹ Mit Unterstützung durch den Schweiz. Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung. Ein Teil der Versuche wurde von Herrn dipl. Natw. ETH DENIS BASSAND durchgeführt.

kennen, und schliesslich, dass die Zygoten besser und unmittelbarer als die in den Fliegen befindlichen Keimzellen zusätzlichen Umwelteinflüssen vor, während oder nach der Bestrahlung ausgesetzt werden können, so beispielsweise Gasen oder Chemikalien.

METHODE

Eine grosse Anzahl 4—5 Tage alter unbegatteter Wildtyp-♀♀ von *Drosophila melanogaster* wurde zusammen mit zahlreichen Muller 5-♂♂ unter die Glasglocke einer speziellen Legeapparatur gebracht. Die nach erfolgter Paarung jeweils innert 10 min auf die leicht auswechselbare Legeschale der Apparatur abgelegten F₁-Eier wurden 10 min später, also im Alter von 10—20 min, und somit als noch ungefurchte Zygoten bestrahlt. Strahlenquelle war eine 50kV-Röntgenröhre, die Bestrahlungsdauer betrug stets 3 min, die Strahlendosis wurde durch Verändern des Fokusabstandes variiert. Die Zygoten befanden sich zur Bestrahlung in einer kleinen Plexiglasskammer, durch welche ein Luftstrom geleitet wurde (Abb. 1).

Versuchsanordnung für Bestrahlung in Luft oder Stickstoff

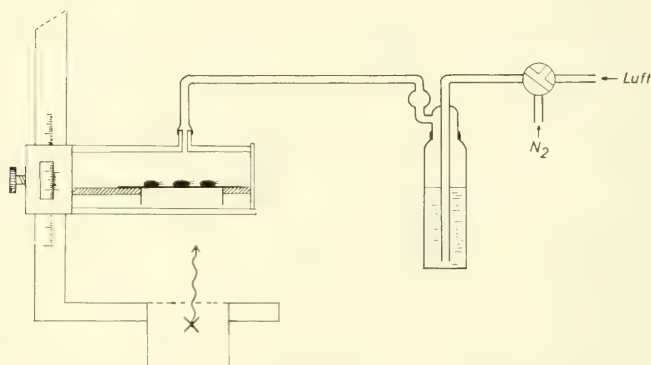


ABB. 1.

Nach der Bestrahlung kamen die Zygoten auf Agarblöcken in Aufzuchttröhrchen. Diese hatten einen inneren Durchmesser von 3 cm, eine Höhe von 11 cm, und enthielten rund 50 cem mit Hefe bedeckten Futterbrei. Durch Auszählen der nicht geschlüpften

Zygoten 2 Tage nach der Bestrahlung wurde die embryonale Sterblichkeit festgestellt. Aus der Differenz zwischen Anzahl der schliesslich entstehenden Imagines und der aus den bestrahlten Zygoten geschlüpften Larven wurde die (auf die geschlüpfte Larvenzahl bezogene) postembryonale Sterblichkeit errechnet.

Die in die Legeapparatur gebrachten Wildtyp-♀♀ besitzen 2 normale X-Chromosomen. Das einzige X-Chromosom der Muller 5-♂♂ (neuerdings werden sie auch Base-♂♂ genannt) enthält den unvollständig dominanten Faktor Bar (Bandäugig) und das rezessive Augenfarballel apricot (aprikosenfarben), ausserdem austauschamerzende Inversionen.

Die von den Fliegen gelieferten F_1 -Zygoten, die wir bestrahlen, sind zur Hälfte weiblich, nämlich heterozygot $+/M5$, zur Hälfte männlich, nämlich hemizygot $+/Y$. Mit den aus diesen Zygoten entstehenden überlebenden F_1 -Fliegen werden Einzelpärchenzuchten angesetzt. Die erhaltenen F_2 -Geschwisterschaften sollten zu gleichen Teilen aus $+/+ - ♀♀$, $+/M5 - ♀♀$, $+/Y - ♂♂$ und $M5/Y - ♂♂$ bestehen. Fehlt die eine oder die andere ♂♂-Sorte, so besagt dies, dass durch die Bestrahlung der betreffenden heterozygoten F_1 -Mutter als Zygote in dem normalen bzw. dem Muller 5-X-Chromosom eine rezessive Letalmutation erzeugt worden war. Der Prozentsatz der F_2 -Geschwisterschaften, in denen eine der beiden ♂♂-Sorten fehlt, ergibt, durch 2 dividiert, die Rate der rezessiv-geschlechtsgebundenen Letalmutationen. Unbestrahlte, nur mit Luft überströmte F_1 -Zygoten dienten als Kontrollen.

VERSUCHE UND ERGEBNISSE

In einer grossen Anzahl Versuche wurden F_1 -Zygoten mit abgestuften Dosen von 200—1400 r bestrahlt. An einem Tag wurde jeweils in einer Reihe von Bestrahlungen nur eine der Dosen angewendet. Versuche mit höheren Dosen als 1400 r sind wegen der dann zu hoch werdenden embryonalen und postembryonalen Sterblichkeit unbrauchbar.

Die für jede Dosis summierten Resultate sind in der Tabelle 1 zusammengestellt. Embryonale und postembryonale Sterblichkeit, auf die wir hier nicht näher eingehen wollen, nehmen mit steigender Strahlendosis zu (siehe hierzu die nachfolgende Arbeit von WÜRGLER 1960).

TABELLE 1

Röntgenbestrahlung von F_1 -Zygoten aus der Kreuzung Wildtyp ♀ × Muller 5-♂ von Drosophila melanogaster. Embryonale und postembryonale Sterblichkeit sowie Rate rezessiv-geschlechtsgebundener Letalmutationen in Abhängigkeit von der Strahlendosis.

Ver- suchs- serie	Dosis in r	Ver- suchs- zygoten	Zygo- ten pro Auf- zucht- röhren	Sterblichkeit % $\pm 2 \sigma$		Ge- prüfte X- Chro- somo- men	Letalmutationen		
				embryonal	postembryonal		Anzahl	%	95 %ige Sicher- heits- grenzen
1+2	0 (Kon- trolle)	11 782	200	13,52 \pm 0,6	10,20 \pm 0,6	3638	17	0,47	0,27 0,75
1	200	6 900	400	35,36 \pm 1,70	21,46 \pm 1,23	2828	41	1,45	1,04 1,96
1	400	3 420	600	56,11 \pm 1,70	26,12 \pm 2,27	784	16	2,04	1,15 3,33
1	600	11 714	700	71,29 \pm 0,84	39,76 \pm 1,96	1646	74	4,50	3,53 5,64
1	800	8 140	800	82,35 \pm 0,85	42,31 \pm 2,61	682	34	4,99	3,45 6,97
1	1000	34 749	900	88,78 \pm 0,34	48,34 \pm 1,90	2052	136	6,63	5,65 7,75
2	1400	80 200	3000	94,99 \pm 0,15	63,66 \pm 1,52	1204	103	8,55	7,01 10,40
1	1200	23 470	1000	90,63 \pm 0,38	68,67 \pm 1,98	546	26	4,76	3,11 6,98
1	1400	29 200	1000	92,32 \pm 0,31	78,21 \pm 1,74	386	19	4,92	2,95 7,69

Wie bereits früher in dieser Zeitschrift (ULRICH 1958) für homozygote Wildtyp-Zygoten gezeigt wurde, besteht bei halblogarithmischer Darstellung zwischen Strahlendosis und embryonaler Sterblichkeit eine annähernd lineare Beziehung. Es wurde damals gleichzeitig demonstriert, dass durch Sauerstoffausschluss während der Bestrahlung mittels Stickstoff die embryonale Sterblichkeit im gesamten Dosisbereich gesenkt wird, und zwar so, dass die lineare Beziehung erhalten bleibt.

Die Halbwertsdosis für die embryonale Sterblichkeit betrug in dem Versuch, dessen Resultate graphisch dargestellt wurden (Rev. Suisse de Zool. 65, p. 447, Abb. 1), bei Bestrahlung in Luft ca. 270 r, bei Bestrahlung in Stickstoff ca. 580 r, nicht, wie im Text p. 446 irrtümlich angegeben wurde, 400 bzw. 850 r.

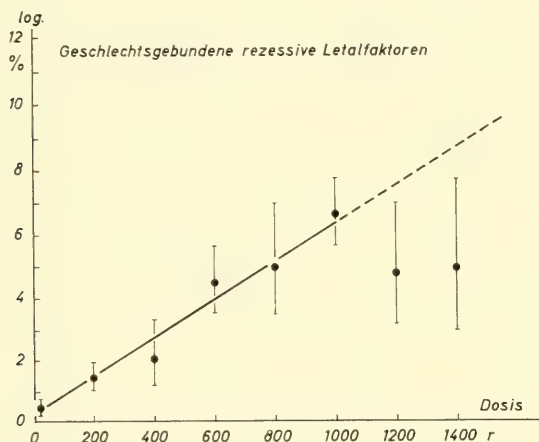


ABB. 2.

Abhängigkeit der Rate rezessiv-geschlechtgebundener Letalmutationen von der Strahlendosis bei Röntgenbestrahlung von F_1 -Zygoten aus der Kreuzung Wildtyp-♀ \times Muller 5-♂ von *Drosophila melanogaster*. Ergebnisse der 1. Versuchsserie. Die eingezeichnete Regressionsgerade ist die gleiche wie in Abb. 3 und aus den dort dargestellten Werten errechnet.

Die in der ersten Versuchsserie (Tabelle 1, Versuchsserie 1) mit insgesamt rund 120.000 bestrahlten Zygoten erhaltenen Raten rezessiv-geschlechtsgebundener Letalmutationen sind mit den Grenzen für 95% ige Sicherheit (nach STEVENS 1942, LAMOTTE 1957) in Abb. 2 graphisch im halblogarithmischen Raster dargestellt. Es zeigt sich, dass für die Dosen von 200 bis 1000 r die Mutationsraten geradlinig ansteigen, dass die Raten für 1200 und 1400 r dann aber eindeutig tiefer als der 1000 r-Wert liegen.

Wie ist dieses starke Abweichen von der Geradlinigkeit im Bereich der höchsten angewendeten Dosen zu erklären? Wir dachten u. a. an folgende Möglichkeit:

Wir hatten die bestrahlten Zygoten in Aufzuchttröhrchen gebracht, in denen die schlüpfenden Larven zu Imagines heran-

wuchsen. Wir gaben umso mehr Zygoten in ein Röhrchen, je höher die Strahlendosis war, um auf diese Weise die unterschiedliche embryonale Sterblichkeit zu kompensieren und eine leidlich gleichmässige Besetzung aller Röhrchen mit Larven zu erreichen. Bei den beiden höchsten Dosen von 1200 und 1400 r waren jeweils 1000 bestrahlte F_1 -Zygoten in ein Röhrchen gebracht worden; das ist eine hohe Anzahl, die aus mehreren einzelnen Bestrahlungen gesammelt werden musste. Da jedoch die embryonale Sterblichkeit bei diesen hohen Dosen mehr als 90% beträgt und auch die postembryonale Sterblichkeit sehr hoch liegt, ist trotz der grossen eingebrachten Zygotenzahl die larvale Besetzung gering. Unterbesetzte Aufzuchtröhrchen bieten aber schlechte Bedingungen. Somit waren die Aufzuchtbedingungen für die überlebenden F_1 -Larven bei den höchsten Dosen schlechter als bei den tieferen. Könnte hierauf das Abfallen der Mutationsraten bei den höchsten Dosen beruhen? Darauf nämlich, dass schlechte Aufzuchtbedingungen für die als Zygoten bestrahlten F_1 -Larven und die dadurch erhöhte postembryonale Sterblichkeit bevorzugt solche F_1 -♀♀ ausmerzt, die heterozygot für eine strahleninduzierte rezessive Letalmutation sind, so dass auf diese Weise die registrierte Mutationsrate gegenüber der ursprünglich induzierten Rate stark gesenkt wird?

Wir prüften diese Hypothese, indem wir insgesamt rund 80.000 F_1 -Zygoten mit 1400 r bestrahlten und von ihnen nunmehr je 3000 — statt 1000 — zusammen in ein Aufzuchtröhrchen brachten. So erhöhten wir die larvale Besetzungsdichte auf das Dreifache und boten damit bessere Aufzuchtbedingungen, die ähnlich denen für die mit niedrigen Dosen bestrahlten Individuen in den vorhergehenden Versuchen waren.

Wie aus Tabelle 1 (Versuchsserie 2) und Abbildung 3 zu ersehen ist, erhielten wir jetzt bei dieser höchsten Dosis eine Mutationsrate, die sehr gut auf einer Geraden mit den vorher bei 200 bis 1000 r gewonnenen Raten liegt. Unsere Hypothese, dass die unerwartet niedrigen Mutationsraten bei den beiden höchsten Dosen in Versuchsserie 1 auf einer Selektionswirkung gegen für induzierte Letalfaktoren heterozygote F_1 -♀♀ beruhte, scheint sich also zu bestätigen.

Zur Sicherung führten wir einen weiteren, speziellen Versuch durch, vorerst nur einmal und mit relativ geringem Material, so dass das Resultat als vorläufig anzusehen ist. Wir bestrahlten rund

18.000 F_1 -Zygoten mit 1000 r und brachten sie je zu 300, 900 oder 3000 in Aufzuchttröhrchen (Tabelle 2). Infolge der strahlenbedingten embryonalen Sterblichkeit, die bei 1000 r etwa 88% betrug und in allen Röhrchen — unabhängig von deren Besetzungsdichte —



ABB. 3.

Abhängigkeit der Rate rezessiv-geschlechtsgebundener Letalmutationen von der Strahlendosis bei Röntgenbestrahlung von F_1 -Zygoten aus der Kreuzung Wildtyp-♀ \times Muller 5-♂ von *Drosophila melanogaster*. Ergebnisse der 1. Versuchsserie, aber ohne Werte für 1200 und 1400 r, ausserdem Ergebnis der 2. Versuchsserie (neuer Wert für 1400 r). Die eingezeichnete Regressionsgerade ist aus den in dieser Abb. dargestellten 7 Werten errechnet.

natürlich etwa dieselbe war, waren die 300er-Röhrchen mit Larven unterbesetzt, die 900er-Röhrchen normal besetzt, während die 3000er-Röhrchen überbesetzt waren. Dementsprechend war die postembryonale Sterblichkeit in den 300er- und 3000er-Röhrchen höher als in den 900er-Röhrchen. Umgekehrt war die Mutationsrate, welche durch Kreuzung überlebender F_1 -Fliegen aus 900er-Röhrchen gewonnen wurde, am höchsten.

In Übereinstimmung mit unserer Hypothese wurde durch Über- und Unterbesetzung, also durch ungünstige Aufzuchtbedingungen, welche die postembryonale Sterblichkeit erhöhen, die registrierte Mutationsrate gesenkt, zweifellos infolge selektiver Sterblichkeit der für induzierte Letalmutationen heterozygoten

F_1 -♀♀. Diese Letalmutationen sind offenbar nicht völlig rezessiv und vermindern wenigstens teilweise die Vitalität der für sie heterozygoten ♀♀.

TABELLE 2

Röntgenbestrahlung mit 1000r von F_1 -Zygoten aus der Kreuzung Wildtyp ♀ × Muller 5 - ♂ von Drosophila melanogaster. Einfluss der Besetzungsdichte der Aufzuchttröhrchen für die F_1 -Individuen auf postembryonale Sterblichkeit und Rate rezessiv-geschlechtsgebundener Letalmutationen.

Zygoten pro Aufzuchttröhrchen	300	900	3000
Anzahl Aufzuchttröhrchen . .	10	3	4
Embryonale Sterblichkeit .%	88,07	87,63	88,12
Postembryonale Sterblichkeit%	42,74	34,73	42,99
Geprüfte X-Chromosomen . .	174	198	688
Letalmutationen%	2,87	7,07	4,80

Wir können auf Grund der geschilderten Versuche annehmen, dass bei Zygotenbestrahlung die induzierte Mutationsrate entsprechend der klassischen Vorstellung geradlinig mit der Strahlendosis ansteigt. Ein zuerst gefundenes Abweichen der registrierten Raten von dieser linearen Beziehung liess sich auf Selektionswirkung zurückführen. Unsere Versuche demonstrieren gleichsam modellmässig, auf welche Weise Abweichungen von der Geraden zustandekommen können. Jedenfalls sollte bei allen Mutationsexperimenten mit der Möglichkeit einer durch Selektion bewirkten Differenz zwischen registrierter und induzierter Mutationsrate gerechnet werden.

LITERATUR

- LAMOTTE, M. 1957. *Initiation aux méthodes statistiques en biologie*. Masson et Cie, Paris. 144 pp.
- MULLER, H. J. 1927. *Artificial transmutation of the gene*. Science 66: 84.
- MULLER, H. J., I. H. HERSKOWITZ, S. ABRAHAMSON and I. I. OSTER. 1954. *A nonlinear relation between X-ray dose and recovered lethal mutations in Drosophila*. Genetics 39: 741-749.

- OLIVER, C. P. 1930. *The effect of varying the duration of X-ray treatment upon the frequency of mutation.* Science 71: 44-46.
- STEVENS, W. L. 1942. *Accuracy of mutation rates.* J. Genet. 43: 301-307.
- ULRICH, H. 1958. *Die mutagene Röntgenstrahlenwirkung auf das ungefurchte Drosophila-Ei und ihre Sauerstoffabhängigkeit.* Rev. suisse Zool. 65: 442-448.
- WÜRGLER, F. E. 1960. *Die Sauerstoffabhängigkeit der Abtötungs- und Mutationsrate bei Röntgenbestrahlung von Drosophila-Zygoten.* Rev. suisse Zool. 67: 295-302.

N^o 24. **Friedrich E. Würgler**, Zürich. — Die Sauerstoffabhängigkeit der Abtötungs- und Mutationsrate bei Röntgenbestrahlung von *Drosophila*-Zygoten.¹ (Mit 3 Textabbildungen.)

Zoologisches Institut der E. T. H.

Die Strahlenwirkungen auf verschiedenste Objekte lassen sich durch zahlreiche chemische und physikalische Milieufaktoren beeinflussen. Für das Verständnis der Mutagenese bei höheren Organismen ist der Sauerstoff-Effekt von besonderem Interesse. Bei *Drosophila* war die Untersuchungsmethode meistens die folgende: Wildtyp ♂♂ wurden als Puppen oder Imagines in verschiedenen Gasatmosphären bestrahlt, mit ♀♀ eines Teststammes ausgekreuzt und die Nachkommen in der F₂ auf rezessive Letalfaktoren geprüft. Um die einzelnen, auf verschiedenen Stadien der Spermatogenese bestrahlten Keimzellen getrennt auf Mutationen zu prüfen, paarte man die ♂♂ in bestimmten Zeitabständen mit neuen, virginen ♀♀. Als Resultat schien sich folgendes abzuzeichnen:

- a) die verschiedenen Stadien der Spermatogenese sind verschieden empfindlich für die Sauerstoffkonzentration in der Umgebung während der Bestrahlung (OSTER 1958);
- b) der Sauerstoffeffekt ist dosisabhängig und nimmt mit steigender Dosis ab (H. FRITZ-NIGGLI 1959 a, b).

¹ Ausgeführt mit Unterstützung des Schweiz. Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung.

Da aber die oben beschriebene Methode manche Unsicherheiten enthält (schwierige Verdrängung des Sauerstoffes aus den Zellen, mögliche germinale Selektion, ungenaue Erfassung der Stadien etc.), waren von der Zygotenbehandlungsmethode, die ULRICH entwickelt hat, genauere Resultate an einem wohldefinierten Stadium zu erwarten. Die ersten Resultate der Untersuchungen über die Sauerstoffabhängigkeit der Röntgenstrahlenwirkung auf *Drosophila*-Zygoten des Stammes „Berlin wild“ wurde an dieser Stelle von ULRICH (1958) veröffentlicht. Er fand, dass bei Dosiseffekt-kurven, die an einem einzigen Versuchstag gewonnen wurden, die embryonale Sterblichkeit durch Stickstoff-Umgebung während der Bestrahlung bei allen Dosen von 100—2000 r gesenkt wurde. Im Mutationsexperiment mit 1000 r konnte er zeigen, dass an rezessiven Letalfaktoren im X-Chromosom in N₂-Milieu nur 4,25% ausgelöst werden, gegenüber 6,5% in Luft (vergl. ULRICH 1958 b, p. 94). Als nächstes sollten nun womöglich ganze Dosis-effekt-kurven der Mutationsraten in Luft und Stickstoff gewonnen und die Dosisabhängigkeit des Sauerstoffeffektes geprüft werden.

MATERIAL UND METHODE

In den vorliegenden Versuchen wurden sowohl Sterblichkeiten als auch rezessiv-geschlechtsgebundene Letalfaktoren registriert. Als genetische Test-Methode wurde die von ULRICH für Zygotenbehandlung abgeänderte Muller 5-(Basc) - Technik verwendet (ULRICH 1957, 1958 a, b). In einer Legeapparatur (ULRICH 1953) brachten wir virgine $+/+ \text{ } \text{♀♀}$ und M5/Y ♂♂ zusammen und sammelten alle 10 Minuten die abgelegten Eier. Nach weiteren 10 Minuten, also im Alter der Eier von 10—20 Minuten nach der Ablage, hat bei 25° C im allgemeinen die erste Furchungsteilung noch nicht eingesetzt (RABINOWITZ 1941, ULRICH 1957). Diese Zygoten wurden in einer Plexiglaskammer während 3 Minuten mit 50 keV Röntgenstrahlen total bestrahlt (Röntgengerät: MÜLLER RT 100; Filter: Be-Eigenfilter, 1 mm Cellon). Die einzelnen Dosen wurden durch Variation des Abstandes Röhrenfocus — Objekt eingestellt (Dosimetrie: Philips Dosimeter 37 482). Bestimmte Gasumgebungen wurden durch Überströmung der Zygoten mit Luft oder Stickstoff realisiert (Versuchsanordnung siehe ULRICH 1960). Die Zygoten

TABELLE 1.

Dosis in r	Embryonale Sterblichkeit				Postembryonale Sterblichkeit				rezessiv-geschlechtsgebundene Letalfaktoren			
	N ₃		Luft *		N ₂		Luft *		N ₂		Luft *	
	Ver- suchs- zygoten	getötete Em- bryonen	% ± 2 σ	% ± 2 σ	gesch- tötete Larven	ge- tötete Larven + Puppen	% ± 2 σ	% ± 2 σ	ge- prüfte X- Chro- moso- men	Muta- tionen	% **	% **
0	6 496	739	44,38 ± 0,79	43,52 ± 0,6	5 757	573	9,95 ± 0,79	10,20 ± 0,6	1 840	18	0,49	0,22 0,93
200	5 780	1 193	20,64 ± 1,06	35,36 ± 1,70	4 587	764	16,66 ± 1,10	21,46 ± 1,23	2 864	31	4,08	0,73 1,54
400	2 996	932	31,11 ± 1,69	56,11 ± 1,70	2 064	338	16,38 ± 1,63	26,16 ± 2,27	1 270	24	4,89	1,21 2,81
600	8 540	4 233	49,57 ± 1,08	71,29 ± 0,84	4 307	1 253	29,90 ± 1,38	39,76 ± 1,96	2 680	52	4,94	1,45 2,55
800	5 980	3 224	53,91 ± 1,29	82,35 ± 0,85	2 756	688	24,96 ± 1,65	42,31 ± 2,61	1 622	42	2,59	1,87 3,50
1 000	5 240	3 371	62,70 ± 1,04	88,78 ± 0,34	1 869	514	25,54 ± 1,57	48,34 ± 1,90	972	38	3,92	3,05 4,97
1 200	8 760	6 500	74,42 ± 0,94	—	2 260	1 039	45,97 ± 2,10	—	960	38	3,96	2,80 5,43
1 400	6 740	5 399	80,10 ± 0,87	94,99 ± 0,15	1 341	648	48,32 ± 3,73	63,66 ± 1,52	492	22	4,47	2,81 6,77
2 400	36 000	32 874	94,16 ± 0,28	—	3 186	1 755	55,08 ± 0,56	—	1 196	140	5,85	4,57 7,39

* Nach ULRICH 1960.

** Grenzen für 95 %-ige Sicherheit nach STEVENS (1942) und LAMOTTE (1957).

befinden sich bereits 1 Minute vor Bestrahlungsbeginn im Gasstrom, um einen Ausgleich zwischen intrazellulärer und extrazellulärer Sauerstoff-Konzentration zu ermöglichen. Während der Bestrahlung strömte Luft oder Stickstoff mit max. 300 l/Std. durch die Bestrahlungskammer. Unmittelbar nach der Bestrahlung wurden die Zygoten in normale Zimmerluft überführt, auf Agarblöcken ausgezählt und in Zuchtgläsern bei 25° C aufgezogen. Nach 2 Tagen wurden die nicht geschlüpften Embryonen gezählt und damit die embryonale Sterblichkeit registriert. Aus der Differenz zwischen geschlüpften Imagines und geschlüpften Larven liess sich die postembryonale Sterblichkeit errechnen. Die überlebenden +/M5 ♀♀ wurden mit den +/Y ♂♂ desselben Aufzuchtglases paarweise gekreuzt und so auf rezessive geschlechtsgebundene Letalfaktoren geprüft. An einem Tage wurde, wenn möglich, mit Eiern derselben Eltern ein Versuch mit bestimmter Dosis in Luft und in Stickstoff durchgeführt.

ERGEBNISSE

Im Laufe eines Jahres wurden zahlreiche Experimente mit insgesamt rund 300.000 Zygoten durchgeführt. Über die Bestrahlungen in Luft berichtet ULRICH 1960. Die Resultate der Versuche in Stickstoff-Atmosphäre sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Die embryonale Sterblichkeit ist berechnet auf die Gesamtzahl der Versuchszygoten, die postembryonale Sterblichkeit jedoch auf die Zahl der geschlüpften Larven. Die Prozentsätze sind mit dem Sicherheitsgrenzen $\pm 95\%$ ($\pm 2 \sigma$) angegeben. Für die Mutationsrate wurden die Sicherheitsintervalle für 95% Erwartung nach STEVENS (1942) und LAMOTTE (1957) berechnet.

DISKUSSION

Alle gefundenen Dosiseffektkurven in Luft und Stickstoff für embryonale (Abb. 1), postembryonale Sterblichkeit (Abb. 2) und rezessiv-geschlechtsgebundene Letalfaktoren (Abb. 3) ergeben Kurven von Typus:

$$y = 1 - e^{-kD}$$

wobei y den registrierten Effekt, D die Dosis und k eine Konstante bedeutet. Die Kurven wurden ermittelt durch Berechnung der

Embryonale Sterblichkeit

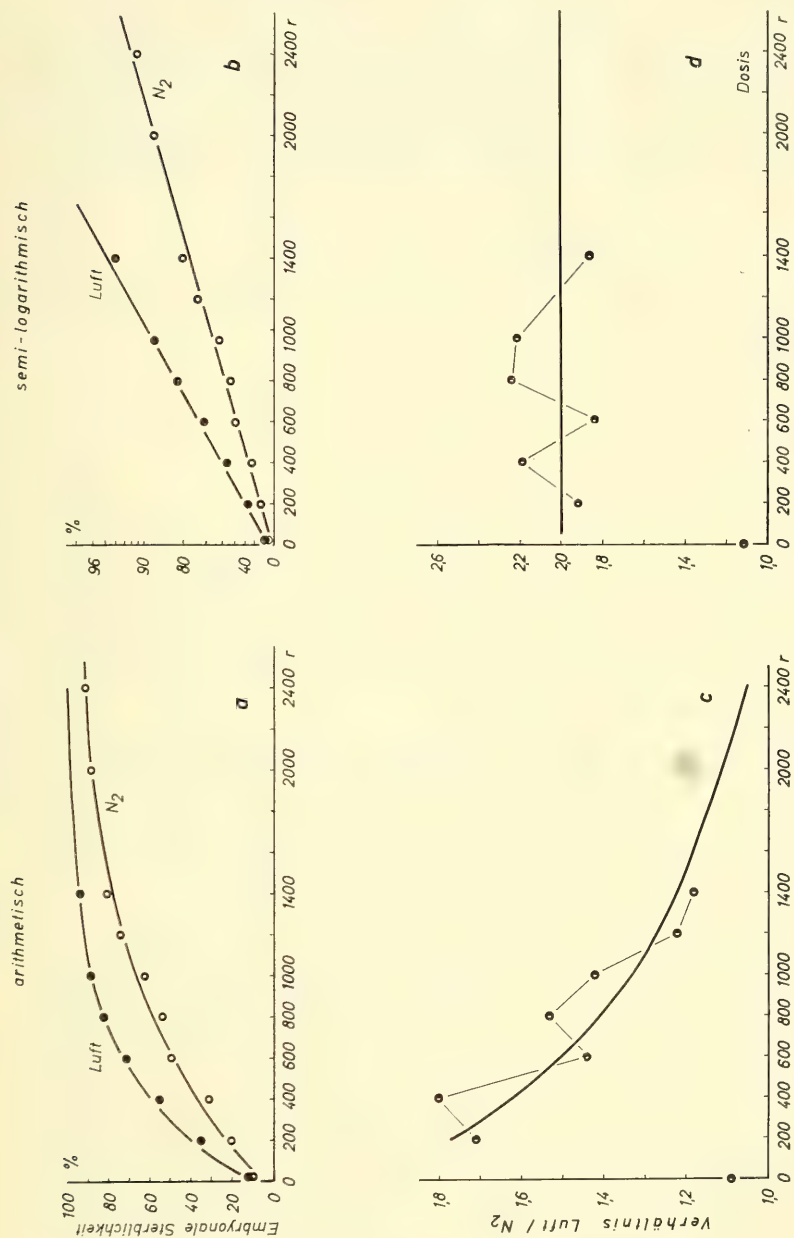


ABB. 1.

Embryonale Sterblichkeit bei Bestrahlung von *Drosophila*-Zygoten in Luft oder Stickstoff. a) arithmetische, b) semi-logarithmische Darstellung. c) Bei Verwendung der rohen Versuchsergebnisse (arithmetische Darstellung). d) Unter Berücksichtigung mehrfach abgetöteter Embryonen (semilogarithmische Darstellung).

Regressionsgeraden nach Umrechnung auf Logarithmen. Um die Grösse und eventuelle Aenderungen des Sauerstoffeffektes über einen grösseren Dosisbereich zu untersuchen, muss man die Kurven in semilogarithmischem Masstabe vergleichen. Dies hat seinen Grund darin, dass ab einem gewissen Prozentsatz von Abtötungs- oder Mutationsereignissen mit zunehmender Wahrscheinlichkeit in einem Individuum zwei oder mehrere Letaleffekte oder Muta-

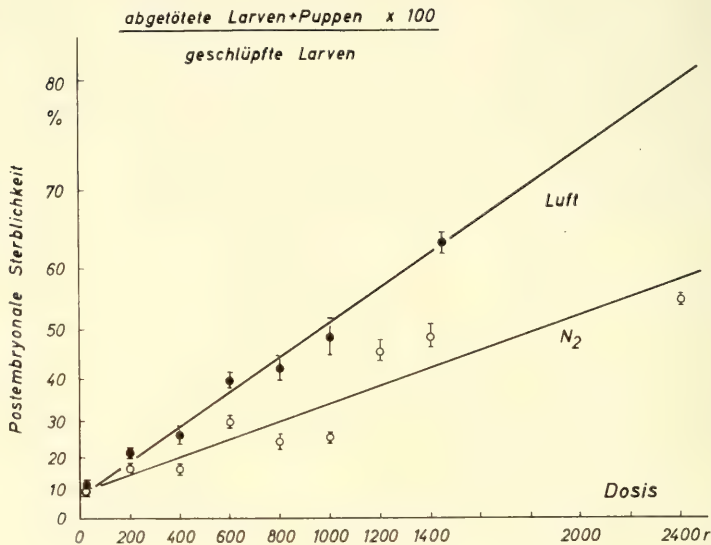


ABB. 2.

Postembryonale Sterblichkeit bei Bestrahlung von *Drosophila*-Zygoten in Luft oder Stickstoff (semilogarithmische Darstellung).

tionen auftreten können. Unsere Methode lässt uns aber nur die abgetöteten oder mutierten Individuen erkennen, nicht aber die 2 oder mehrfach abgetöteten. Um mehrfache Mutationsereignisse festzustellen, müssten die registrierten Letalfaktoren weiter analysiert werden. Bildet man das Verhältnis von Effekt in Luft zu Effekt in Stickstoff einfach nach den rohen Versuchsergebnissen (Abb. 1a arithmetisch) so muss eine mit steigender Dosis fallende Kurve (Abb. 1c) resultieren. Aus Vergleichen von rohen Einzelergebnissen bei 1000 und 2000 r schloss H. FRITZ-NIGGLI (1959 a, b) auf eine Dosisabhängigkeit des Sauerstoffeffektes bei der Auslösung

von dominanten und rezessiven Letalfaktoren bei *Drosophila*. Berücksichtigt man jedoch die mehrfachen Ereignisse, die in einzelnen Individuen auftreten können (Abb. 1b), so hat man zwei Geraden zueinander ins Verhältnis zu setzen und erhält in unserem Falle eine Horizontale (Abb. 1d). Die Versuchsergebnisse für embryonale und postembryonale Sterblichkeit und für rezessive Letalfaktoren entsprechen den erwarteten Kurven.

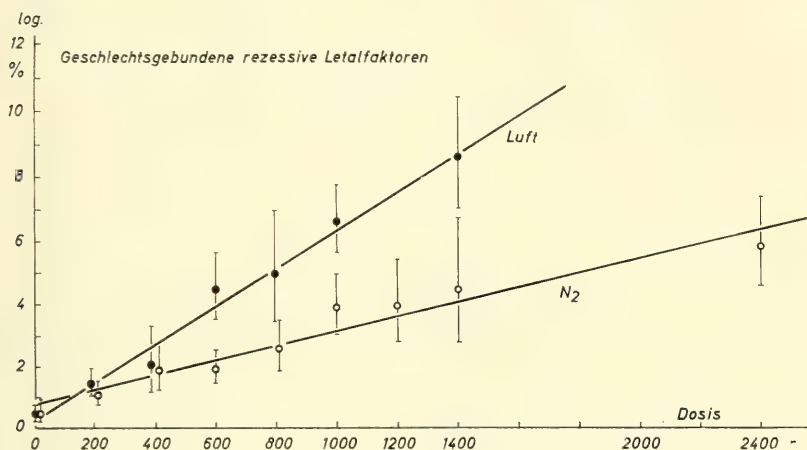


Abb. 3.

Abhängigkeit der Rate rezessiv-geschlechtsgebundener Letalfaktoren von der Röntgenstrahlendosis und der Gasumgebung während der Bestrahlung (semilogarithmische Darstellung). Kurve in Luft nach ULRICH 1960.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Der von ULRICH gefundene Sauerstoffeffekt auf die embryonale (ULRICH 1958) und postembryonale Sterblichkeit (unveröffentlicht) bei Total-Bestrahlung von *Drosophila*-Zygoten des Stammes „Berlin wild“ liess sich auch an Dosiseffektkurven von F₁-Zygoten der Kreuzung „Berlin wild“ × MÜLLER 5 (Basc) nachweisen.

2. Die neuen Versuche wurden nicht an einem Tage, sondern an verschiedenen Tagen im Laufe eines Jahres durchgeführt. Dass die gefundenen Dosiseffektkurven mit denen von ULRICH gut übereinstimmen, zeigt, dass die Methode bei genügend grossen Versuchszahlen reproduzierbare Ergebnisse liefert.

3. Bei Bestrahlung der Zygoten in Stickstoffatmosphäre steigt die Häufigkeit der rezessiven geschlechtsgebundenen Letalfaktoren in semilogarithmischer Darstellung linear mit der Dosis an.

4. Ein Vergleich der Mutations-Dosiseffektkurven bei Bestrahlung der Zygoten in Luft (ULRICH 1960) und in Stickstoff lässt erkennen, dass die Häufigkeit rezessiv-geschlechtsgebundener Letalfaktoren bei allen analysierbaren Dosen von 200—1400 r in N₂ gleichermassen gesenkt wird.

5. Eine mathematische Analyse aller Versuchsergebnisse zeigt, dass die embryonale und postembryonale Sterblichkeit, ebenso wie die Mutationsraten, bei allen untersuchten Dosen durch Anoxie während der Bestrahlung auf rund die Hälfte gesenkt wird.

LITERATUR

- FRITZ-NIGGLI, H. 1959. a. *Strahlenbiologie*. Thieme, Stuttgart. 379 pp.
 — 1959 b. *Strahlen-genetik der Drosophila*. Strahlenbiol., Strahlentherapie, Nuclearmedizin und Krebsforsch. I: 157-210.
- LAMOTTE, L. 1957. *Initiation aux méthodes statistiques en biologie*. Masson, Paris. 144 pp.
- OSTER, J. 1958. *Radiosensitivity*. Genen en Phaenen 3: 53-66.
- RABINOWITZ, M. 1941. *Studies on the cytology and early embryology of the egg of Drosophila melanogaster*. J. Morphol. 39: 1-49.
- STEVENS, W. L. 1942. *Accuracy of mutation rates*. J. Genet. 43: 301-307.
- ULRICH, H. 1953. *A convenient method of collecting large numbers of Drosophila eggs homogeneous in age*. Dros. Inf. Serv. 27: 124-125.
- 1957. *Die Strahlenempfindlichkeit von Zellkern und Plasma und die indirekte mutagene Wirkung der Strahlen*. Verhdl. Deutsch. Zool. Ges. in Hamburg 1956: 150-182.
- 1958 a. *Die mutagene Röntgenstrahlenwirkung auf das ungefurchte Drosophila-Ei und ihre Sauerstoffabhängigkeit*. Rev. suisse Zool. 65: 442-448.
- 1958 b. *Strahlen-genetische Untersuchungen an Drosophila-Eiern*. Archiv Julius Klaus-Stiftung 33,3/4: 90-97.
- 1960. *Die Beziehung zwischen Strahlendosis und Mutationsrate bei Röntgenbestrahlung von Drosophila-Zygoten*. Rev. suisse Zool. 67: 287-295.

N^o 25. **Christoph Zeller**, Zürich. — Das periodische Eierlegen des Kletterfrosches *Rhacophorus leucomystax* (Kuhl). (Mit 2 Textabbildungen und 2 Tabellen.)

Zoologisches Institut der Universitas Indonesia, Bandung¹. —
Zoologisch vergl. Anatomisches Institut der Universität Zürich.

EINLEITUNG

Auf dem Areal der technischen Fakultät der Universitas Indonesia in Bandung (Java) bot sich die Gelegenheit, die Schaumnester von *R. leucomystax* in grösserer Zahl zu studieren. Vier grosse Wassertanks, etwa 20 m lang, 6 m breit und 6 m tief, waren nur teilweise mit Wasser gefüllt, so dass über dem Wasserspiegel 2—4 m der zementierten Wand freilag. Diese Wände boten den Fröschen günstige Plätze für ihre Nester. In der näheren Umgebung der technischen Fakultät wurden fast nie *Rhacophorus*-Nester gefunden. Es ist anzunehmen, dass die beschriebenen Zementtanks den nahezu ausschliesslichen Nestplatz einer lokalen Population bilden.

Alle Nester, die vom Oktober 1956 bis Oktober 1957 abgelegt wurden, sind registriert worden. Das meteorologische Institut von Bandung lieferte Messungen der Maximal- und Minimal-Temperatur, Niederschlagsmenge und Luftfeuchtigkeit. In der vorliegenden Arbeit wird nun die Abhängigkeit des Eierlegens von den genannten Klimafaktoren untersucht.

Die Vermutung, der Regen etwa stimuliere die Frösche, bestätigte sich bald. Um den spezifischen Einfluss von meteorologischen Gegebenheiten auf das Absetzen der Nester zu untersuchen, sollten entsprechende Messungen an Ort und Stelle durchgeführt werden, denn das Mikroklima der Zementtanks wird nicht immer mit den Messungen des meteorologischen Institutes übereinstimmen; schwere tropische Regengüsse können ja auf einem kleinen, scharfbegrenzten Gebiet niedergehen. Messungen am Nestplatz waren mir aber nicht möglich. Eine Ausdehnung der Beobachtungs-

¹ Frl. Sie Ko Iem danke ich für die Hilfe beim Protokollieren der Nester.

periode wäre sehr wünschenswert gewesen, war aber ebenfalls nicht möglich; jemand hatte nämlich einige Fische in die Tanks geworfen, die offenbar den Fröschen das Nestermachen an den Tankwänden verleiteten.

Es kann sich also im folgenden nicht darum handeln, die klimatischen Bedingungen des Eierlegens im Detail zu analysieren, sondern nur darum, Zusammenhänge zwischen Wetter und Nestfrequenz festzustellen. Im Laufe der Beobachtungen wurde eine Periodizität der Nestfrequenz vermutet, die zu diskutieren die Hauptaufgabe dieser Untersuchungen ist.

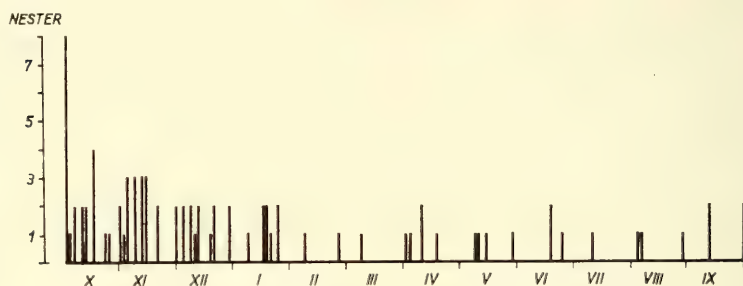


FIG. 1.

Verteilung der Nester im Beobachtungsjahr. Die Nester von je zwei aufeinanderfolgenden Tagen sind zusammengezählt und auf der Ordinate aufgetragen. Die Abszisse stellt das Beobachtungsjahr dar, beginnend mit Oktober.

DIE NESTPERIODEN

Die Tage, an welchen ein oder mehrere Nester gefunden wurden (im folgenden als Nesttage bezeichnet), sind nicht gleichmässig über das ganze Jahr verteilt (Fig. 1). In den ersten Monaten der Regenzeit, im Oktober und November, konzentrieren sich die Nesttage. Nahezu die Hälfte aller Nester des beobachteten Jahres wurden während dieser Monate abgesetzt. Aber auch während der übrigen Monate scheinen die Nesttage nicht zufällig verteilt, sondern sie scheinen sich in regelmässigen Abständen zu häufen: Nestreiche Perioden (im folgenden als Nestperioden bezeichnet) wechseln mit nestarmen Perioden ab. Die Begrenzung dieser Perioden ist nicht ohne weiteres aus Figur 1 ersichtlich, nestarme Perioden und Nestperioden scheinen etwa gleich lang zu dauern, etwa 15—20 Tage. Mit etwas Probieren findet man, dass die Periodizität

eindeutig sichtbar wird, wenn das Beobachtungsjahr in Perioden von 18 Tagen eingeteilt wird.

Die Nestperioden enthalten insgesamt 68 Nester, die nestarmen Perioden nur 24. Eine solche Verteilung ist statistisch gesichert verschieden ($p < 0,001$) von einer gleichmässigen Verteilung der Nester auf die Perioden.

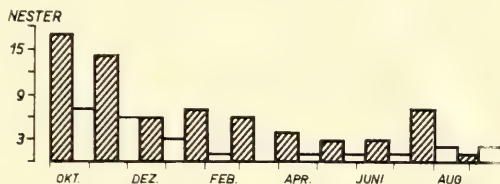


FIG. 2.

Verteilung der Nester auf Nestperioden (schraffierte Blöcke) und der nestarmen Perioden (leere Blöcke). Die Höhe der Blöcke bezieht sich auf die Summe aller Nester der entsprechenden Periode.

EINFLUSS DER NIEDERSCHLÄGE

Die Regenzeit dauert in Bandung normalerweise von Oktober bis Mai und ist unterbrochen von einer kleinen Trockenzeit im Dezember. Die Regenverteilung im Beobachtungsjahr hält sich ungefähr an die Regel. Die Figuren 1 und 2 illustrieren deutlich den Jahreszyklus der Nesthäufigkeit mit einem klaren Maximum am Anfang der Regenzeit. Es ist möglich, dass ein Anstieg der Kurve in August und September dadurch verhindert wurde, dass zu dieser Zeit bereits einige Fische in zwei von den vier Wassertanks ausgesetzt wurden, und dass dadurch die *Racophorus*population gestört wurde. Ist die Verteilung der Regentage für die Nestperioden verantwortlich? In Nestperioden regnete es an 99 Tagen, in den nestarmen Perioden an 79; der Unterschied ist statistisch nicht gesichert.

Tatsächlich haben aber Regentage einen Einfluss auf das Eierlegen (Tab. 1). Beim Protokollieren der Nester konnte nicht unterschieden werden, ob sie vor oder nach Mitternacht abgesetzt wurden. In Tabelle 1 ist darum auch der Regen des Vortages berücksichtigt. Während es 1,83 mal mehr Regentage als trockene Tage gibt, werden 7,36 mal mehr Nester an Regentagen als an trockenen Tagen gelegt. Die Heterogenität der Nesttage ist signifikant, das

heisst der Anteil der Regentage an den Nesttagen ist innerhalb und ausserhalb der Nestperioden verschieden. Die linke Hälfte der Tabelle lässt eine entsprechende Heterogenität nicht nachweisen. Die Perioden hängen nicht mit der Verteilung der Regentage zusammen.

EINFLUSS DER LUFTFEUCHTIGKEIT

Die Kurve der Luftfeuchtigkeit während des Beobachtungsjahres gleicht der Niederschlagskurve. Tabelle 2 gibt Auskunft über die Mittelwerte der Luftfeuchtigkeit. Die Perioden unterscheiden sich nicht in ihrer Feuchtigkeit und Regentage sind natürlich feuchter als trockenere. Die Feuchtigkeit der Nesttage in- und ausserhalb der Nestperioden ist deutlich verschieden.

Die Feuchtigkeit der Nesttage in den Nestperioden stimmt mit der Feuchtigkeit von Regentagen überein. Ausserhalb der Nestperiode finden sich Nester an Tagen mit signifikant niedrigerem Feuchtigkeitssmittel ($p < 0,01$) und die Streuung ist erheblich grösser. Die Frösche reagieren ausserhalb der Nestperioden weniger spezifisch auf Luftfeuchtigkeit.

DER EINFLUSS DER TEMPERATUR

Als Temperaturmass wurde die Minimaltemperatur gewählt, weil sie am ehesten den Bedingungen, unter welchen die Frösche ihre Nester legen, entspricht; die meisten Nester werden in der Nacht oder am frühen Morgen abgesetzt.

VERTEILUNG DER REGENTAGE

	TAGE MIT REGEN ODER REGEN AM VORTAG	TROCKENER TAG MIT TROCKENEM VORTAG	NESTTAG MIT RE- GEN ODER REGEN AM VORTAG	TROCKENER NEST- TAG MIT TROCKE- NEM VORTAG
IN NEST- PERIODE	123	57	64	4
IN NEST- ARMER PERIODE	110	70	17	7
TOTAL	233	127	81	11
HETERO- GENITÄT	$\chi^2 = 2,056$ $0.2 > p > 0.1$		$\chi^2 = 9.137$ $0.01 > p > 0.001$	

TAB. 1.

Die Minimaltemperaturkurve lässt keinerlei Beziehung zu den Nestperioden erkennen. Das Hauptminimum der Kurve liegt zu Beginn oder kurz vor Beginn des Maximums im Jahreszyklus der Nesthäufigkeiten. Dieses Temperaturminimum dürfte wohl mit dem Gipfel der Legetätigkeit der Frösche im Zusammenhang stehen.

MITTELWERTE UND VARIANZEN DER RELATIVEN LUFTFEUCHTIGKEIT IN %

	MITTELWERT	VARIANZ	NESTTAGE	
			MITTELWERT	VARIANZ
IN NEST- PERIODE	79.46 180 TAGE	60.11	82.21 68 NESTER	39.18
IN NEST- ARMER PERIODE	78.32 120 TAGE	57.11	76.84 24 NESTER	75.21

TAB. 2.

Die durchschnittliche Minimaltemperatur beträgt $18,36 \pm 0,7^\circ \text{C}$. Der durchschnittliche Nesttag hat innerhalb der Nestperiode $18,44 \pm 0,14^\circ \text{C}$ und ausserhalb der Nestperiode $17,79 \pm 0,23^\circ \text{C}$. Die Wahrscheinlichkeit, dass die Differenz zwischen Temperatur der Nesttage in und ausser der Nestperioden auf Zufall beruht, liegt zwischen 0,01 und 0,02.

In Bezug auf die Minimaltemperatur zeigt sich wieder, dass die Nesttage innerhalb und ausserhalb der Nestperioden verschieden sind und zwar gleichen sie in den Nestperioden eher den Regentagen ($18,60^\circ \text{C}$) und in den nestarmen Perioden den trockenen Tagen ($17,95^\circ \text{C}$).

DISKUSSION

Regen, Temperatur und Luftfeuchtigkeit hängen gegenseitig voneinander ab und beeinflussen das Eierlegen.

Welcher dieser Faktoren wirksam ist, kann hier nicht entschieden werden. Die berichteten Untersuchungen haben lediglich gezeigt, dass die meteorologischen Eigenschaften eines Regentages während der Nestperioden für das Eierlegen von Bedeutung sind, und dass ausserhalb der Nestperiode die meteorologischen Eigenschaften der Nesttage stärker streuen und eher denjenigen der trockenen Tage entsprechen. Die Frösche verhalten sich also während der verschiedenen Perioden verschieden. Dieser Befund

und die Tatsache, dass das Wetter in den Nestperioden und den nestarmen Perioden dasselbe ist, lässt darauf schliessen, dass die Periodizität des Eierlegens in der Physiologie der Frösche verankert ist und nicht eine Periodizität von Umweltbedingungen widerspiegelt.

Regentage können nur als Auslöser des Eierlegens betrachtet werden, die sich auswirken, wenn eine periodisch wiederkehrende Bereitschaft der Frösche vorhanden ist. Die Frösche, die ihre Eier ausserhalb der Nestperioden legen, können nicht solche sein, die einfach eine phasenverschobene Periodizität haben, denn die auslösenden Bedingungen sind ausserhalb der Perioden anders.

Es muss zwei verschiedene Typen von Fröschen geben. Es könnte sich um Alterklassen oder um systematische Varietäten handeln. Es könnte auch sein, dass Frösche, welche ihre Eier während der Nestperiode nicht loswerden, es später unter abgeänderten auslösenden Bedingungen tun. Worauf die periodische Bereitschaft, an Regentagen Eier zu legen, beruht, kann aus den vorliegenden Daten nicht geschlossen werden. Es kann nur betont werden, dass es sich um einen physiologischen Rhythmus handeln muss, der bei allen Fröschen, die ihm folgen, synchron läuft. Es wäre denkbar, dass dieser Rhythmus mit der Eireifung zusammenhängt.

Beide Typen von Fröschen folgen dem grossen Jahreszyklus, denn das Verhältnis zwischen Nester in- und ausserhalb der Nestperioden ist während des ganzen Jahres, also auch während des Nestmaximums zu Beginn der Regenzeit, das gleiche.

ZUSAMMENFASSUNG

Bei *Rhacophorus leucomystax* wird neben dem Jahreszyklus des Eierlegens mit seinem Maximum am Anfang der Regenzeit eine sekundäre Periodizität mit kürzeren Phasen nachgewiesen. Diese sekundäre Periodizität beruht auf einer physiologischen periodisch wiederkehrenden Bereitschaft der Frösche an Regentagen ihre Eier zu legen. Sie verläuft bei allen Tieren, die ihr folgen, synchron. Ein kleiner Teil der Frösche zeigt diese Periodizität nicht und legt ihre Nester an beliebigen eher trockeneren Tagen.

	pages
N° 19. A. MEYLAN. Contribution à l'étude du polymorphisme chromosomique chez <i>Sorex araneus</i> L. (<i>Mamm. Insectivora</i>). (Note préliminaire.) Avec 2 figures dans le texte	258
N° 20. H. MISLIN. Zur Funktionsanalyse des lymphatischen Kaudalherzens beim Aal (<i>Anguilla anguilla</i> L.)	262
N° 21. G. B. SAUL 2ND. The Occurrence of Fluorescent Substances in the Parasitic Wasp <i>Mormoniella vitripennis</i> (Walker)	270
N° 22. R. SCHLOETH, K. KLINGLER und D. BURCKHARDT. Markierung von Rotwild in der Umgebung des Schweizerischen Nationalparks. Mit 2 Abbildungen	281
N° 23. Hans ULRICH. Die Beziehung zwischen Strahlendosis und Mutationsrate bei Röntgenbestrahlung von <i>Drosophila</i> -Zygoten. Mit 3 Textabbildungen	287
N° 24. Friedrich E. WÜRGLER. Die Sauerstoffabhängigkeit der Abtötungs- und Mutationsrate bei Röntgenbestrahlung von <i>Drosophila</i> -Zygoten. Mit 3 Textabbildungen	295
N° 25. Christoph ZELLER. Das periodische Eierlegen des Kletterfrosches <i>Rhacophorus leucomystax</i> (Kuhl). Mit 2 Textabbildungen und 2 Tabellen	303



PUBLICATIONS
DU MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

En vente chez GEORG & Cie, libraires à Genève.

CATALOGUE DES INVERTÉBRÉS DE LA SUISSE

Fasc. 1.	SARCODINÉS par E. PENARD	Fr. 12.50
Fasc. 2.	PHYLLOPODES par Th. STINGELIN	» 12.50
Fasc. 3.	ARAINÉES par R. DE LESSERT	» 40.—
Fasc. 4.	ISOPODES par J. CARL	» 8.—
Fasc. 5.	PSEUDOSCORPIONS par R. DE LESSERT	» 5.50
Fasc. 6.	INFUSOIRES par E. ANDRÉ	» 18.—
Fasc. 7.	OLIGOCHÈTES par E. PIGUET et K. BRETSCHER	» 18.—
Fasc. 8.	COPÉPODES par M. THIÉBAUD	» 18.—
Fasc. 9.	OPILIONS par R. DE LESSERT	» 11.—
Fasc. 10.	SCORPIONS par R. DE LESSERT	» 3.—
Fasc. 11.	ROTATEURS par E.-F. WEBER et G. MONTET	» 36.
Fasc. 12.	DÉCAPODES par J. CARL	» 11.50
Fasc. 13.	ACANTHOCEPHALES par E. ANDRÉ	» 11.—
Fasc. 14.	GASTÉROTRICHES par G. MONTET	» 18.—
Fasc. 15.	AMPHIPODES par J. CARL	» 12.50
Fasc. 16.	HIRUDINÉES, BRANCHIOBELLES et POLYCHÈTES par E. ANDRÉ	» 17.—
Fasc. 17.	CESTODES par O. FUHRMANN	» 30.50
Fasc. 18.	GASTÉROPODES par G. MERMOD	» 55.—

LES OISEAUX DU PORT DE GENÈVE EN HIVER

par F. DE SCHAECK

Avec 46 figures dans le texte.

Fr. 7.—

En vente au Muséum d'Histoire naturelle de Genève.

CATALOGUE ILLUSTRÉ
DE LA COLLECTION LAMARCK
appartenant au
MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE DE GENÈVE

1^{re} partie. — FOSSILES

1 vol. 4^o avec 117 planches.

Fr. 300.—

IMPRIMÉ EN SUISSE